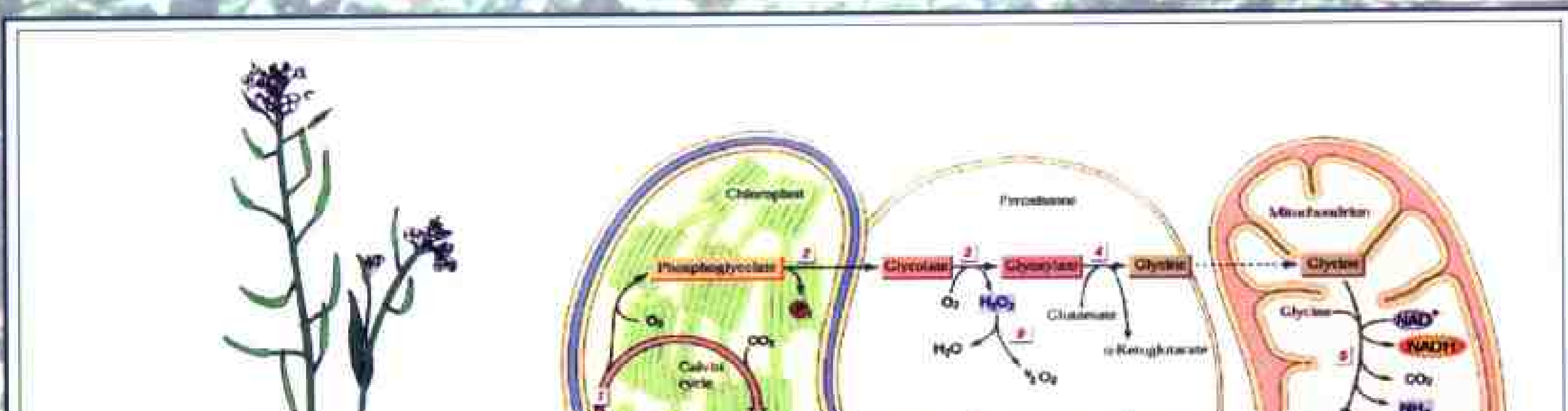
面向21世纪课程教材

Textbook Series for 21st Century

# 植物生理学

武维华 主编



科学出版社

www.sciencep.com

(Q-1229.0101)

责任编辑：莫结胜 潘秀敏 封面设计：黄华斌 责任印制：刘士平



ISBN 7-03-011089-7

9 787030 110893 >

ISBN 7-03-011089-7
定 价：50.00 元

面向 21 世纪课程教材

Textbook Series for 21st Century

# 植 物 生 理 学

主 编 武维华

副主编 张蜀秋 袁 明 张 军

审 稿 王学臣

科 学 出 版 社

北 京

## 内 容 简 介

植物生理学是生命科学的基础学科之一。本书编者参考了国际上最近几年较通行的植物生理学教材的章节框架和内容，并尽可能在内容上反映国际上本学科的最新研究成果，以期使内容达到在基础性、包容性、通用性、先进性、参考性等方面的统一。全面阐述了植物生理学的基本概念、基础知识及本学科的前沿进展等，同时还注意将实验技术方法与理论内容有机结合。全书分为五大部分(植物细胞、水分与矿质营养，植物体内的物质代谢及能量转换，植物的生长发育，植物环境生理，植物生物技术)，共21章。

本书可用作综合大学及农林师范院校的植物生理学和植物学教材，也可供其他教学科研相关人员及中学生物教师参考使用。

**图书在版编目(CIP)数据**

植物生理学/武维华主编．—北京：科学出版社，2003.4
(面向21世纪课程教材)

ISBN 7-03-011089-7

Ⅰ．植… Ⅱ．武… Ⅲ．植物生理学—高等学校 –教材
Ⅳ．Q945

中国版本图书馆CIP数据核字(2002)第108706号

责任编辑：莫结胜　潘秀敏 / 责任校对：柏连海
责任印制：刘士平 / 封面设计：黄华斌

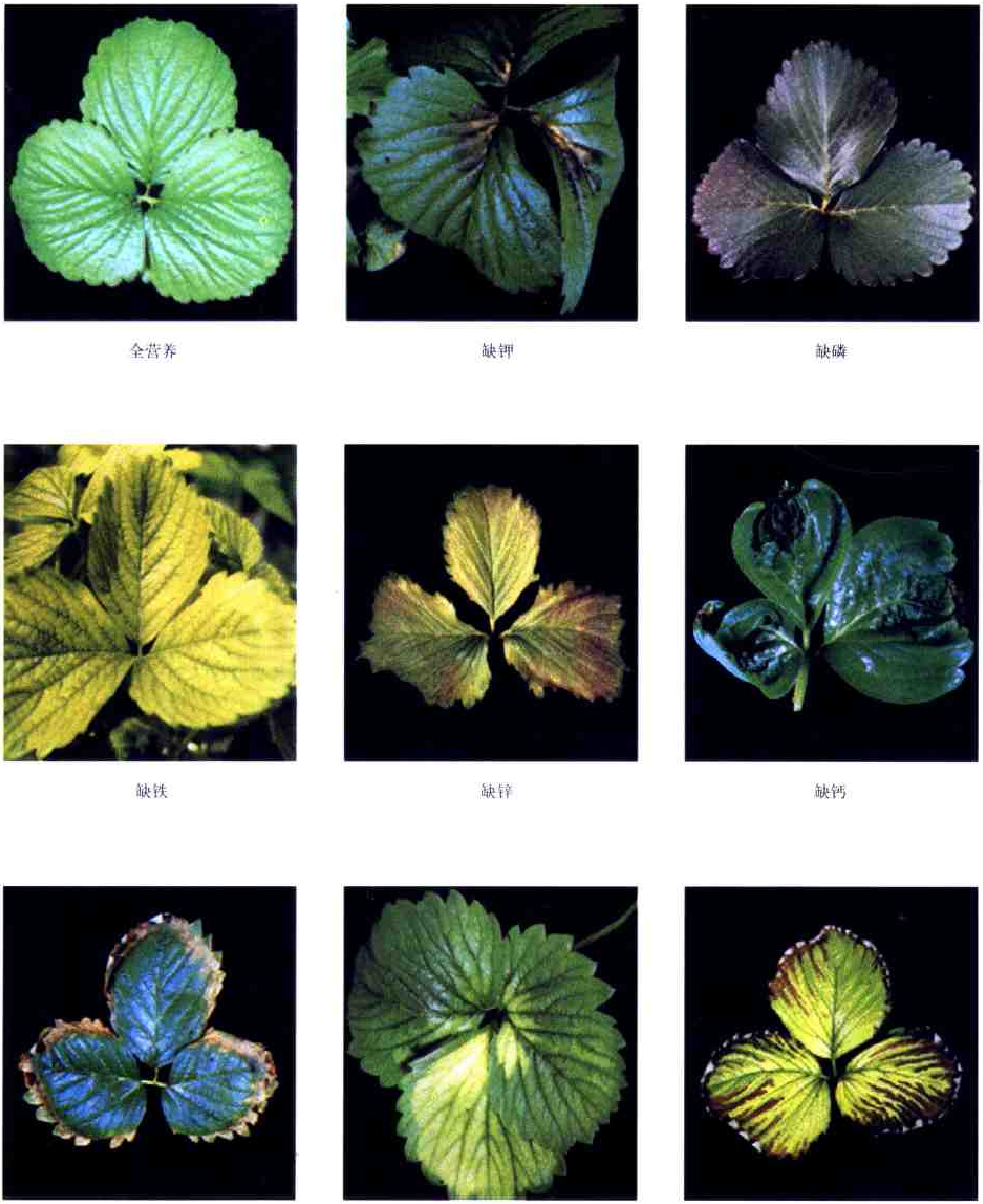
科学出版社 出版
北京东黄城根北街16号
邮政编码：100717
http://www.sciencep.com
双青印刷厂 印刷
科学出版社发行　各地新华书店经销

*

2003年4月第一版　开本：850×1168 1/16
2003年4月第一次印刷　印张：33 1/4　插页：1
印数：1—4 000　字数：913 000

**定价：50.00元**

(如有印装质量问题，我社负责调换〈环伟〉)



全营养　缺钾　缺磷

缺铁　缺锌　缺钙

缺镁　缺铜　缺锰

图5-2　草莓叶片的缺素症状（Buchanan et al.　2000）




图21-1　拟南芥的形态示意图

拟南芥 (A) 在人工培养条件下的生长状况 (B, C, D)。B和C是在植物光照培养室内普通育秧盘中培养的Columbia生态型拟南芥。D示在普通花盆中培养的Landsberg *erecta*生态型拟南芥。

# 序

我国的高等教育正在进入一个迅速发展的时期，我们要在扩大办学规模，提高办学效益的同时，加快教育教学改革的步伐，培养高质量的人才。

近年来，我校坚持以研究促教改，通过采取立项研究的方式，调动了广大教师投身教学改革的积极性，将转变教师的教育思想观念与教学内容、教学方法改革紧密结合起来，取得了实效。这次推出的农科主要基础课系列教材，就是基础课教师长期钻研课程体系和教学内容的重要成果。他们从转变教育思想入手，站在面向21世纪科技、社会发展趋势的高度，对农科主要基础课的教学内容进行“精选”、“重组”和“拓宽”，将现代科学理论的观点和方法引入基础课，强调学生思维能力等综合素质的培养。

与我校过去编写的基础课教材相比，这套教材以“整体优化”和“内容更新”为出发点，强化了基础课在传授基础知识、培养基本能力和提高综合素质方面的作用，它的出版，将对提高农科主要基础课的教学质量做出贡献。

在科学出版社的大力支持下，我校组织编写了农科类大学生适用的《大学基础物理》、《大学数学》、《大学数学（续）》、《应用概率统计》、《基础化学Ⅰ》、《基础化学Ⅱ》、《基础化学Ⅰ实验》、《生物化学》、《植物生物学》、《动物生物学》、《植物生理学》、《微生物生物学》、《动物生理学》、《普通遗传学》等14种教材。建设农科主要基础课系列教材的设想也得到了北京市教委的重视和支持，列入了北京市教育教学改革试点项目。

当前，以“统编教材”或“规划教材”为核心的教材建设机制面临转变，这套教材是我校加强自身教材建设的一次尝试，目的是以教材建设来推动学校基础课教学内容和课程体系的整体改革。

江树人

# 娄成后序

我国自古以务农为本，历代长年，发展田地耕作、作物栽培、维持定居的社会生活。在不断地改善农业生产技术中，逐步发掘出植物生长的一些特性，多方加以利用。一些久经考验的传统经验（如一年多茬复种的栽培措施等）不乏植物生理学的内涵，至今看来，仍有开发余地。中世纪末，西欧国家掀起了工业革命。蒸汽驱动机器的发明，使得生产效率十倍于牲畜、百倍于人力！工、商、交通、航运等事业从而崛起，工业蓬勃发展的势力遍及全世界。农、林、牧业也随着新兴社会的需要，大幅度地迅猛扩展。西方国家的经济发展很快地取代了我国历史上长期占有的经济优势。新型事业在不断创新中，需要应用物理学、化学、生物学的基础知识来启迪，从而带动了自然科学的理论研究。

植物生理学的兴起与发展与19世纪自然科学的三大发现（细胞理论、进化论、物质与能量守恒定律）密不可分，早期的植物生理学先驱们采纳物理、化学领先建立的试验方式，用来分析从生活植物中观察到的一些有关物质、能量与形态转变的生理现象。始于17世纪、一直延续到20世纪中期的有关植物营养代谢、生长发育等过程的研究，获得了一系列丰硕成果并被应用于作物出间生产实践，为光照、水分、肥源、土壤、物种、人工资源的利用制定了合理的措施，田间作物的单位面积产量也因此得以成倍提高。研究成果还被用来创造一些适于温室、大棚、厂房内栽培、加工、储藏的新技术，在很多方面极大地改进和丰富了作物生产的内容。诸如化肥和农药的制造、组织培养的无性繁殖与芽苗脱毒、育苗移栽、反季节园艺栽培、农产品长期储藏保鲜等等，无一不是植物生理学研究成果的实践应用。

高等植物是以细胞为单元，逐步建立组织、器官等多层次的形态，并且和周围环境密切关联的复杂系统。植物生理的研究既有微观的对个别现象深人到分子水平的细微分析，又有宏观的对其部位间以至植株与环境间相互作用的整体综合。植物界种类多样，千姿百态，形态功能，各自有异。种瓜才能得瓜，取决于物种的遗传属性。20世纪中叶，从豌豆杂交试验引发了遗传学的系列研究，以至后来分子生物学的迅猛发展，连迭创建出一系列破天荒的崭新概念与精巧技术。分子生物学和遗传工程的发展给植物生理学的发展带来了大好机遇，使得在分子生物学水平深人地研究和解析复杂奇妙的植物生理现象成为可能。生物遗传属性乃是由细胞染色体内核酸构成的基因来决定的。基因在生物个体发育过程中的表达是通过核酸分子中所包含的特异碱基序列为模板，来合成对应的蛋白质以执行相应功能的。植物的个体发育与生命活动离不开多种蛋白质所操纵的生理功能。反过来说，应用基因操作技术改善作物的某些性状就是通过最终改变某些参与性状表现的蛋白或其功能。鉴定与功能蛋白相对应的核酸片段，将其加以改造或将其引人其他物种，改善被转化植物的遗传属性及其个体的生理功能，成为别开生面的创举！

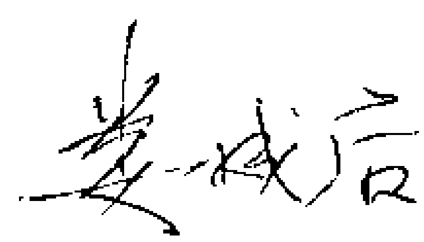
另外，大量的生理、生态研究资料显示，环境的营养条件、光温周期的转换、以及其他有益的或有伤害的境遇，对植物个体发育的进程与遗传属性的表达与变异具有显著的影响和调控作用。植物的生命活动乃是内部遗传信息与外界信息相互作用的具体表现。植物个体的生理学研究正是串联微观的分子生物学和宏观的生态学的中间环节，从统筹考虑全局的观点出发，这三学科的相互协作才能更好地在生产实践中发挥效用。传统农田生产的栽培耕作技术，倾向于将植物看作是被动的、“麻木不仁”的生产工具，多靠人为的照顾与安排、维持营养条件的适当配置，以及防除自然与生物灾害的侵袭。过去的小农经济不惜劳力不计成本，靠人力的经营与物资的投人来保证农作物的高

产优质。现下农产品进入市场经济后，粮食作物、林木、果蔬等生产事业，不仅需要生产者和经营者熟练掌握植物生理学的一般知识，也必须钻研各种特殊植物的特有生活规律，以期结合实际情况来提高生产效率和经济效益。

高等植物的器官间可以借激素、生长因子等微量的活性物质传递信息，有些人工模拟的制剂已经被用来有效地调控作物个体发育的发芽、抽枝、展叶、开花、结实的过程，协调整体的活动来适应外界的变化。在提高产品质量、防除灾害的侵犯等方面，轻便地喷洒某些制剂就足以顶替大量的操作。此外，设施园艺无土栽培、叶面施肥、工厂化育苗移栽、组织培养的无性繁殖、节水灌溉等都是植物生理学知识被用于生产实践的范例。植物生理学研究工作发展的趋向已逐步向着利用多种手段以改善植物本身的生理功能、充分发挥植物自身主动适应复杂多变的环境条件以及高效利用有限水分养分资源的方向发展，最终目标当然是在如何尽量减少对生态环境破坏的前提下，生产出人们生活所需的优质产品。

一个微米级大小的植物细胞具有发育成完整植株的全能性，植物细胞内部包含各种灵活应变的细胞器，通过网络的联系而有序施工，执行新陈代谢的使命。它能将周围稀薄的简单原料与弥散的能源，合成结构简繁不拘、各有专司的多种有机物。现下兴旺发达的有机化学工业能够制定精巧的工序，大批量生产出各种各样社会所需的产品，这些产品大都是利用大型的工厂装置，经高温、高压的能量投入，加工成植物本来利用自然能源和简单物质就可以高效合成的有机物。现代植物生理学研究的重要职责之一就是努力揭示植物细胞自力更生的机密。一个令人悬念、梦寐以求的设想就是创造工艺取代植物所具有的高超的同化本领，以使人类在生活上完全摆脱对植物产品的依赖、更为自由地向广阔的时空迈进！

总结现代植物生理学各方面的成果、编写适用于高等院校教学的教材是一项很有意义的工作。本书是由我校从事植物生理学教研工作的几位骨干成员编写的，他们分工协作、历经数年努力，终于成书。本书所选用的素材丰富，有些是经典的内容，有些则代表植物生理学的新趋向以及植物生理学与其他学科交融合作开辟出的新领域，特别是在以往国内常用教材的基础上又增加了一些新的必要内容，适合于新时期的植物生理学教学实践。我期望他们能在今后随着植物生理学的发展，不断地进一步充实与完善教材的内容，为我国植物生理学的发展做出贡献。

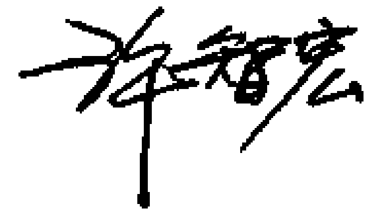


2003年2月15日

# 许智宏序

植物生理学是生命科学的基础学科之一，因此也是各类高等院校相关专业学生的必修专业基础课程之一。但近十余年来，我国高等学校植物生理学教学中一直缺乏能较全面地反映植物生理学基本内容和最新进展的教材。中国农业大学植物生理学与生物化学国家重点实验室的几位同志最近编写了这本《植物生理学》教材，其内容参考了国际最新流行教材的内容，在全面介绍植物生理学的基本知识和概念以及经典内容之外，又扼要介绍了植物生理学的最新研究进展，并力求反映由于分子生物学发展及其与植物生理学研究相结合对植物生理学本身发展的深刻影响。教材内容强调了植物生理学研究的核心内容是植物生命活动过程中的“功能及其调控机理”，注重了阐述从“基因表达”到“性状表达”之间的植物体内一系列信息传递、能量与物质代谢等过程的分子调控机制。教材除了注意保留植物生理学的经典章节的内容外，新增加了“植物细胞离子跨膜运输”、“植物的次生物质代谢”、“植物激素作用机理”、“植物细胞信号转导”、“植物生物技术”等数章重要内容，教材最后还介绍了模式植物拟南芥。这些内容的增加一方面无疑是反映了植物生理学研究的进展，同时对逐步改变我国高等学校植物生理学教材一直按照理、工、农、医、师分类使用不同内容版本的做法是一有益的尝试。本教材内容在基础性、通用性、先进性、参考性等方面达到了较好的统一。

随着拟南芥、水稻等模式植物基因组全序列测序工作的完成，植物科学整体研究工作的重点将逐步转向“功能基因组”的研究，即研究与植物代谢和生长发育的分子调控机理、作物重要农艺性状表达密切相关的基因的功能及相互作用。而从“基因表达”到“性状表达”之间的过程是通过植物体内一系列信息传递、能量与物质代谢等复杂的生理生化过程及其调控环节来实现的，而“植物生理学”正是在植物整体、组织器官、细胞及分子水平上研究这些复杂生命活动过程及其调控机制的科学。也就是说，植物生理学的研究正是基因水平的研究与性状表达的研究之间的“桥梁”。可以预言，21 世纪的植物生理学将逐步发展成为围绕植物生命活动过程的“功能实现及其调控机理”、在植物功能基因组的水平上全面探讨植物生长发育分子机理的全新学科。我期待着本教材在我国高校植物生理学的教学过程中发挥积极的促进作用，也希望教材内容在今后的改编或再版时能不断与时俱进。



2003 年 2 月 20 日

# 前　言

植物生理学是生命科学的基础学科之一，因此也是各类院校中与生物学相关的专业的本科及研究生必修的一门专业基础课程。

在过去的几十年中，与我国高等学校教学使用教材一直按照理、工、农、医、师分类使用不同教材的做法相一致，植物生理学教材一直沿袭理、农、医、师等的划分方法分别使用各主管部门组织编写的相应教材。这种条块分割的做法在一定程度上有悖于植物生理学作为生物学专业基础课程的性质，也在事实上限制了我国植物生理学教材内容的基础性、包容性、通用性、参考性及先进性。例如，以往农业院校农学类各专业使用的植物生理学教材内容可能更注重强调与作物栽培相关的内容，而医学院校相关专业则可能更多强调与中草药相关的知识等等，再加上对教材篇幅和讲课时数的限制，导致我国的植物生理学教材的内容一直与国际通行的教材存在较大差距。而植物生理学作为生命科学的基础学科之一有其自身的性质和内涵，主要应包括对植物生理学的基本概念的阐述、基础知识的全面介绍、本学科的最新进展等。同时，植物生理学是一门实验科学，教材还应注意将实验技术方法与理论内容有机结合。在考虑到这些因素的前提下，编者在反复斟酌、讨论的基础上确定了本书的编写原则：依据植物生理学的自身学科性质，在力求较全面地阐述基本概念和介绍基础知识的基础上，参考国际上最近几年较通行的植物生理学教材的章节框架和内容，并尽可能在内容上反映国际上本学科的最新研究成果，以期使本教材内容达到在基础性、通用性、先进性、参考性等方面的统一。

参加本教材编写的人员均为中国农业大学植物生理学与生物化学国家重点实验室的主要学术骨干。在对编写内容分工时，基本上是结合各人相对专长的研究领域进行的，以保证教材内容能尽可能充分反映相关领域的最新研究进展和内容。本教材共分二十一章。绪论和第四、五、十八、二十一章由武维华编写；第一、二、三、六、八、十章由袁明编写；第七、十四、十五、十六、十七章由张蜀秋编写；第九、十一、十二、十三章由张军编写；第二十章由王学臣和武维华编写；第二十一章由胡剑和武维华编写。在完成初稿后，先在编写人员间相互交叉审阅，在避免不同章节内容重复或遗漏的同时，也对书稿做了初步校正。然后由武维华统稿，最后经王学臣教授审定全稿。科学出版社的莫结胜女士在本书的文字、图表及其格式的修改审定方面做了大量工作。

本教材的编写得到了科学出版社科学出版中心和中国农业大学教务处的指导和关心，同时也得到了编写人员所在单位中国农业大学许多领导和师生的关心和帮助。在此一并表示感谢。编者对教材中所引用的许多国内外教材、专著及科技期刊的大量资料和图片均尽最大可能一一做了标注，如有遗漏和错误敬请见谅。

尽管编写者尽了最大努力期望本书在全面介绍植物生理学基本概念和基础知识的同时，也尽可能地反映植物生理学研究领域近十年来的最新进展，但由于一方面本领域从分子水平探讨植物生长发育机理的研究成果日新月异，另一方面编者的水平也有限，所以内容上可能尚不尽如人意。此外，尽管我们在文字、图表等方面已十分仔细认真，但仍难免会有一些错误，敬请读者见谅。同时，也望读者能将对本书的意见和建议反馈给我们，以便在本书有机会再版时予以相应的修改。

编　者

2002 年 10 月于中国农业大学植物生理学与生物化学国家重点实验室

# 目　录

# 绪　论

## 一、植物生理学的学习和研究内容

植物生理学(plant physiology)以学习和研究构成植物的各部分乃至整体的功能及其调控机理为主要内容,通过了解其功能实现过程及其调控的机理来不断深入地阐明植物生命活动的规律和本质。简言之,植物生理学研究和探讨的核心内容是植物生命活动过程中的"功能及其调控机理"。诸如植物根组织细胞如何自土壤或水体中吸收无机营养和水分、叶片组织中叶肉细胞的叶绿体如何自大气环境中固定二氧化碳、植物体内的无机物和有机物如何通过维管束被转运、植物各部分的活细胞如何感受并传递环境刺激信号、植物如何适应恶劣自然环境等等功能实现过程的机制以及不同功能过程之间的相互协调和作用机理等,这些都属于植物生理学的研究范畴。

需要特别指出的是,植物生理学的研究范畴并不局限在个体、组织和器官、细胞、分子等某一结构层面上,研究植物生命活动功能的过程可以是在较为宏观的个体或组织、器官水平上,也可以是在细胞和分子水平上。例如,在 20 世纪 50~70 年代,植物生理学家们在叶肉细胞和叶绿体结构水平上研究植物的光合作用过程及其调控机制;但在 20 世纪后期至现在,人们逐步地开始在类囊体膜蛋白复合体、光合碳代谢的关键酶的基因表达调控等分子及分子遗传水平上研究光合机理及其调控。特别是近几年来,随着植物基因组学研究的迅猛发展,植物科学家们已经开始了"植物功能基因组学"(plant functional genomics)的研究,而植物生理学正是以研究植物的"功能过程及其调控机制"的科学,这无疑为植物生理学研究的发展提供了更为广阔的空间。从分子遗传学的概念来讲,植物各种性状的表达是由基因的表达及其调控来控制的,而从基因表达到性状表达的过程是依赖多种生理生化过程(即功能实现过程)及其调控来实现的。根据植物生理学内涵的不断变化,人们也不断地提出一些新的学科名称来试图反映这些变化,如近年来就有"植物分子生理学"(plant molecular physiology)的提法。我们认为,对于植物生理学家来说重要的还是不断地以发展的眼光和态度去理解和充实植物生理学的真正内涵。

植物完成其生活史的生命活动过程十分复杂,从植物生理学的角度可人为地将其大致分为生长发育与形态建成、物质与能量代谢、信息传递和信号转导三个大的方面。

植物的生长发育是植物生命活动的外在表现。生长是指由于细胞数目增加、细胞体积的扩大而导致的植物个体体积和重量的增加;而发育是指由于细胞的分化所导致的新组织、新器官的出现所造成的一系列形态变化(或称形态建成),包括从种子萌发,根、茎、叶的生长,直到开花、结实、衰老、死亡的全过程。人类对植物生命活动的认识正是从对其生长发育的观察和描述开始的。而植物生长发育的基础是植物体内的物质和能量转化过程(或称为物质与能量代谢过程)。

植物的代谢活动包括水分和养分的吸收、植物体内各种物质的运输、无机物的同化与利用、碳水化合物的合成与分解及转化等等。作为实现和完成植物生长发育过程基础的各种代谢过程受到多方面因素的调节,除了某一代谢过程自身在其各个环节上存在复杂的调节机制外,不同代谢过程之间也存在有机的协调。与其他生物种类相比较,绿色植物代谢活动的最大特点是它的"自养性"(autotropism)。绿色植物通过执行光合作用(photosynthesis)这一"地球上最重要的化学反应"(诺贝尔奖基金委员会评语),以太阳光能为能源将简单的无机物($CO_2$ 和 $H_2O$)合成为碳水化合物,又以碳水化合物作为基本骨架合成蛋白质、核酸、脂类等各种生物大分子。植物通过光合作用不仅为其自身的生长发育和繁衍提供了物质和能量来源,也为人类及其他多种动物提供了食物来源,还是目前工业所需主

要能源(煤、石油等)的来源。

植物的代谢途径或过程异常复杂,而不同的代谢途径或过程之间又存在相互联系和制约。植物通过其体内复杂的信息传递过程实现对多种代谢过程的调控。

植物生活在复杂多变的环境中,植物的生长发育过程在很大程度上取决于环境因素的影响。植物一方面在长期的进化过程中已逐步形成其顺应环境的有规律变化的生命周期,另一方面在长期适应环境变化的过程中形成了对恶劣环境条件的适应或抵抗能力。植物对环境因素变化的响应首先始于植物对环境(物理的或化学的)信号的"感知"。在许多情况下,植物"感知"环境信号的部位(细胞、组织或器官)与植物响应环境信号发生特定生理效应的部位可能是不同的,这就存在信号感受部位将信息传递到发生反应的部位的过程,即所谓信息传递。例如当进入秋季后,自然光照时间(日长)变短(或夜长增加),一年生短日植物的叶片感受到夜长时间增加的环境信号后,经一系列信息传递过程使植物茎顶端分生组织发生一系列成花的生理反应,直至花芽形成和开花。而多年生落叶树木的叶片在感受到夜长增加的信号后,则会启动叶柄离层的形成和脱落、枝条进入休眠状态等一系列的生理反应。植物除了能感受环境因素变化的信号并做出相应的反应外,植物内部的不同器官和细胞之间,甚至细胞内部的不同亚细胞结构之间也存在频繁的内源性信息传递过程。例如,高等植物的根组织合成的某种信号物质可能被运送至地上部分的组织或器官(甚至某些特定的细胞)而调控后者的生理生化过程。

"信息传递"和"信号转导"两种提法之间在字面上较容易混淆,一般"信息传递"主要指内源和外源的物理或化学信号在植物整体水平的传递过程(如根、冠间的信息传递),而"信号转导"多指在单个细胞水平上的信号传递过程,故又称为"细胞信号转导"(cellular signal transduction)(参见第十八章)。

## 二、植物生理学的发展历史

在植物生理学作为一个学科产生之前,人们对植物的研究最初是从对植物外部形态的描述开始的,因此,在植物科学领域最先产生的是植物形态学和以形态学为基础的植物分类学。随着显微镜的发明,人们对植物形态的描述逐步地从宏观进入到微观,由此而产生了植物解剖学。而植物形态发生学、植物胚胎学等分支学科则是对植物的描述性研究由静态向动态发展的结果。与描述性科学不同,实验科学的结论须来自经过周密设计的实验和对实验结果的科学分析与判断。植物生理学正是从探索植物生命活动现象的本质开始孕育,并且逐渐成长而成为一门独立学科的。由于物质与能量的代谢作用是生命现象的基础,而对物质与能量代谢作用的研究和认识离不开化学和物理学理论与研究技术的发展,所以,也可以说植物生理学是随着化学和物理学的发展而产生和发展起来的。

在现代植物生理学诞生之前,人们通过肉眼的观察记载和生产劳动中经验的积累已具备了很多对植物生命活动现象的感性认识。在这方面,我国劳动人民有过突出的贡献。周肇基先生在他编著的《中国植物生理学史》(周肇基 1998)一书中,引用了大量的历史文献、古代农书、地方志等,论述了我国上起原始社会、下至封建社会末年的5000余年间劳动人民应用在农业生产中的技术方法中所体现的植物生理学知识。远在公元前3世纪战国时期的《荀子·富国篇》中就有"多粪肥田"的记载,西汉《氾胜之书》已将施肥方式分为基肥、种肥、追肥。公元6世纪北魏贾思勰所撰《齐民要术》描述了"热进仓"贮麦法("日曝令干,及热埋之"),此法一直沿用至近代。我国劳动人民为解决冬小麦春播不能正常抽穗问题而创造的"七九闷麦法",实际上就是现在的"春化"法。中国是世界著名的文明古国之一,有着灿烂的历史文化和科技创造(如四大发明)和著称于世的悠久农业,在我国曾领先于世界其他各国的精耕细作传统农业技术中蕴藏着大量宝贵的植物生理学知识。与其他学科近代科学理论的建立及技术发展的情况类似,这些宝贵的知识始终长期停留在原始积累阶段,未能先于西方工业国家而发展成为一门自成体系的实验科学。这主要是由于统治我国两千余年的封建制度始终是科学技术

发展的沉重桎梏，而在西方工业革命之后相当长的一段时间内，我国又屡遭列强侵略、国力日衰，致使我国科学技术的整体发展大大落后于西方，当然植物生理学的发展也不能幸免。

始于17世纪中叶的英国资产阶级革命使社会生产力空前高涨，也为18世纪60年代开始的工业产业革命准备了条件，而始于英国的工业产业革命很快影响到整个欧洲。在促进欧洲特别是西欧国家生产力发展的同时，科学技术的发展也被大大促进和加快。而植物生理学的最初研究工作也是始于17世纪。

*(1) 植物生理学的孕育阶段* 这一阶段从1627年荷兰人范·海尔蒙特(J. B. van Helmont, 1577～1644)做柳枝实验开始，直到19世纪40年代德国化学家李比希(J. von Liebig, 1803～1873)创立植物矿质营养学说为止，经历了200多年的时间。在植物生理学还未成为一门独立的学科之前，人们最初是从探讨植物营养和植物体内汁液流动、植物对空气的"净化作用"现象等问题开始的。在此之前的很长一段时期，人们一直是以古希腊哲学家亚里斯多德的"腐殖质学说"来解释植物如何获取营养的。该学说用动物的营养方式来理解植物吸收利用营养的过程，认为植物通过类似于动物经胃、肠吸收营养的方式，以植物的根通过从土壤中吸收腐殖质来构成其躯体。医生兼炼金术士范·海尔蒙特用实验否定了植物营养的"腐殖质学说"。他在一个大木桶中装入90kg土壤，栽植了一株2.27kg重的柳枝，以后只浇灌雨水，而且防止灰尘进入土壤中。5年后，长成的柳树重达76.7kg，而土壤重量只减少了几十克。范·海尔蒙特由此认为，植物是从环境中摄取水分来构成其躯体的。可以说，范·海尔蒙特是第一个用科学实验来探讨植物营养本质的人，他的实验结果虽然动摇了亚里斯多德的学说，但由于当时的化学知识尚处在比较原始的"炼金术"阶段，并不知道空气的组成和化学成分，更不知道水是由什么构成的，因此范·海尔蒙特不可能从他的实验结果得出正确的结论。之后，英国的黑尔斯(S. Hales, 1672～1761)研究了植物的蒸腾作用，对植物吸收和运转水分的过程提供了一些理论解释。1771年，氧的发现者英国学者普里斯特利(J. Priestley, 1733～1804)发现绿色植物有一定的净化空气的作用，他将老鼠放在密闭的玻璃钟罩里，不久老鼠便窒息而死，其中的空气也失去助燃能力；但若在钟罩里同时放入绿色植物，经过几天老鼠仍能存活，而且放置绿色植物的钟罩里的空气能重新恢复助燃能力。后来，有人重复普利斯特利的实验而得出相反的结果，即植物也能把空气"变坏"。荷兰科学家英根浩兹(Jan Ingenhousz, 1730～1799)进行了一系列实验后于1779年指出，植物只有在光下才有净化空气的作用，并且只有植物的绿色部分才具备这种能力；在黑暗中，植物与动物一样，也能使空气"变坏"。这些关于绿色植物与空气成分变化的研究是对绿色植物光合作用认识的启蒙阶段。后来直到19世纪初，瑞士植物生理学家索苏尔(de Saussure)利用定量化学实验证明，植物在光下吸收的二氧化碳与放出的氧气有等体积关系，但在此期间植物体所增加的重量加上释放出的氧气重量超过了所吸收的二氧化碳重量，索苏尔认为，多余的重量是由水提供的。此外，这一时期还明确了二氧化碳被同化后的产物是糖和淀粉、光是推动此过程的动力、将叶片中的绿色色素命名为叶绿素(chlorophyll)、初步探讨了不同光谱成分对二氧化碳同化的影响等等。至此，关于植物光合作用的概念已具雏形。

光合作用的初步发现动摇了植物营养的腐殖质理论，促使科学家以新的观念探究植物土壤营养的秘密。由于化学分析技术在18世纪末至19世纪初已有明显进展，因而促进了对植物和土壤化学成分的研究。1804年，索苏尔在他的著作《对于植物的化学分析》中就指出：植物体内的碳素是从空气中得来，而氮素则是以无机盐的形式从土壤中吸收来的。而法国学者布森高(J. B. D. Boussingault, 1802～1879)建立的植物无土栽培试验方法则为植物矿质营养的研究奠定了技术基础。1840年，德国化学家李比希以对植物灰分分析的多年实验结果为依据，在他的著作《化学在农业及生理学中的应用》中指出，植物只需以无机物为养料便可维持其正常生活，除了碳素来自空气以外，植物体内的其他矿物质都是从土壤中摄取的。这些结论宣布了植物矿质营养学说的诞生，确立了植物区别于动物的

“自养”特性，使争论了两个世纪的植物营养来源问题有了一个正确的结论。同时，李比希矿质营养学说的建立也标志着植物生理学作为一门学科的诞生。

(2) *植物生理学的诞生、成长阶段*　从李比希矿质营养学说的建立到19世纪末德国植物生理学家萨克斯(J. Sachs，1832～1897)和他的学生费弗尔(W. Pfeffer)的两部植物生理学专著问世为止，植物生理学的诞生和成长经历了约半个世纪的时间。

进入19世纪之后，细胞学说、能量守恒定律和生物进化论的陆续确立有力地推动了自然科学各个领域研究的迅速发展。在植物矿质营养的研究方面，明确了植物生长所需的氮素并不是直接自空气中获得的，豆科植物的固氮作用是由与其共生的根瘤细菌所完成的；1859年，诺普(W. Knop)和费弗尔成功地使培养在按固定配方配制的营养液中的植物完成了生活史，使植物营养研究进入了精确化和定量化阶段，为植物必需的大量元素和微量元素的陆续发现创造了条件，也为农作物施肥奠定了理论基础。在细胞学说的推动下，费弗尔开展了植物原生质特性的研究，他和范特霍夫(J. H. Van't Hoff)全面研究了细胞的渗透现象，提出了细胞渗透学说，科学地解释了水分进出细胞的现象。在能量守恒定律确定之后，迈耶(Meyer　1845)认为光合作用也服从这一定律，光合作用产物中积累的能量就是由日光能转化而来，因此光合作用的本质就是将光能转化为化学能，但他未能用实验证明这种设想。19世纪60年代，俄国著名植物生理学家季米里亚捷夫用自行设计的仪器对叶绿素的吸收光谱进行了比较精细的研究，证明光合作用所利用的光就是叶绿素所能吸收的光。在植物呼吸作用研究方面，俄国科学家巴赫(Bach)、巴拉金(Palladin)和科斯梯切夫(Kostychev)做出了重要贡献，确认呼吸作用是一种“生物燃烧”，所释放的能量来自呼吸底物中所储藏的能量。在植物的生长发育与环境影响的关系方面，达尔文关于植物运动的详细观察与实验开辟了植物感应性研究的新领域。

至19世纪末，萨克斯和费弗尔在全面总结了植物生理学以往研究成果的基础上，分别写成了《植物生理学讲义》(Sachs　1882)和三卷本的专著《植物生理学》(Pfeffer　1897)，成为影响达数十年之久的植物生理学经典著作和植物生理学发展史中的重要里程碑。这两部著作的问世标志着植物生理学已经成为一门新兴的独立学科。

(3) *植物生理学的发展阶段*　随着20世纪以来科学技术的突飞猛进，植物生理学也得到了快速的壮大与发展。作为植物生理学理论基础的物理学和化学的迅速发展，使人们深入研究植物生长发育现象本质和规律的工作也大大加速。同时，与植物生理学密切相关的一些学科(如细胞学、遗传学、微生物学、生理物理学)也在迅速发展，这也从另一方面促进了植物生理学的发展。而基于物理和化学基础理论的材料科学、激光与微电子技术的迅速发展，为生命科学提供了一系列现代化研究技术和观测手段，如同位素技术、电子显微镜技术、X射线衍射技术、超离心技术、层析技术、电泳技术等等，有力地促进了植物生理学在20世纪上半叶的快速发展。而在20世纪50年代以后，随着DNA双螺旋结构的揭示、遗传密码的破译，及分子生物学、DNA重组与遗传工程技术的迅猛发展，又迅速地将植物生理学的研究工作推向了新的阶段。伴随着20世纪下半叶分子生物学的发展，其他一系列受计算机的普及应用所催生的新技术方法也相继诞生并迅速被应用，诸如各种数据与图像处理技术、信息网络技术、各种计算机数据库的建立(如拟南芥、水稻等模式植物的基因组数据库等)，以及各种可由计算机控制和进行数据处理分析的生理生化观测与分析技术，这些都极大地促进了植物生理学从微观至宏观各个层次研究工作的发展。可以说，在20世纪植物生理学的研究在微观和宏观的各个层次上都取得了长足的进展，获得了许多重大突破。

光合作用机理的研究在20世纪中叶取得了突破性进展。首先是在光合碳代谢研究方面，美国加州大学伯克利分校的卡尔文(M. Calvin)和本森(A. Benson)及其同事在1946年至1953年间利用放射性示踪($^{14}C$示踪)技术和纸层析技术，揭示了光合作用中$CO_2$同化的生化反应步骤，提出了著名的卡尔文循环(即“光合碳循环”)代谢途径(光合代谢$C_3$途径)。1965年，美国科学家考萨彻克(H. P.

Kortschak)等人又发现了光合碳代谢的 $C_4$ 途径。随后人们又在景天科植物中观测到了景天酸代谢途径(CAM)。在光合光反应机理研究方面,20 世纪中期就开始了解到光合光反应涉及两个光反应系统,随后逐步明确了光合电子传递链的基本结构及电子传递机制。在 20 世纪下半叶,主要研究工作集中在光合光反应过程中的光能吸收、传递、转换等的分子机理方面。而且,随着对一些光合膜上功能性色素蛋白及其复合体结构的研究,光合光反应分子机理的研究已逐步进入解析光合色素蛋白复合体的结构与功能的关系的阶段。

在植物细胞结构与功能的研究方面,随着 20 世纪中期以后电子显微镜和 X 射线衍射技术的逐步广泛应用,人们对植物细胞的亚显微结构有了充分的认识。对细胞膜结构的了解及生物膜"流动镶嵌"模型的建立使得对细胞膜各种功能的研究成为可能,这一阶段对各种植物细胞膜结构所执行的电子传递、能量转换、离子吸收、信号转导等生理功能的研究取得了许多重要成就。面对细胞内各种细胞器结构与功能的研究也使人们在亚细胞水平解释植物的生命活动现象方面进入了新的阶段。

20 世纪 50 年代美国康奈尔大学的斯图尔德(F. C. Steward)和他的同事们在研究植物激素——细胞分裂素调控细胞生长分化的同时,证实了单个植物体细胞在适当的条件下能够发育成为完整的植株个体,这是植物生长发育机理研究在 20 世纪取得的重大突破之一。随后,人们陆续证实了不仅是植物组织或单个体细胞,甚至原生质体或花粉在离体培养条件下也能分化成长为新的完整植物个体,这些工作的重要性不仅是从理论上证明了植物细胞具有"全能性"(totipotency),而且也为后来的植物细胞工程和植物基因工程的发展创造了技术条件。

在 20 世纪中叶还相继发现了植物光周期现象和控制光周期现象的色素蛋白复合体——光敏色素(phytochrome),到 20 世纪末人们已经知道植物体内存在多种不同的光敏色素分别对感受和传递不同波长或不同强度的光信号负责,这些光敏色素调控着许多与植物光形态建成相关的生理生化过程。进入上世纪 80 年代以后,人们开始陆续了解到植物细胞至少有三类光受体,包括对红光和远红光敏感的受体(即光敏色素)、对蓝光敏感的蓝光受体、以及对紫外光敏感的紫外光受体。其中对红光和远红光敏感的受体,即光敏色素的研究较为深人。而利用模式植物拟南芥及其各种对光敏感或不敏感的突变体已经证明,高等植物中存在光敏色素基因家族,如在拟南芥中克隆的 *PHYA*、*PHYB*、*PHYC*、*PHYD*、*PHYE* 就是分别编码 5 个不同光敏素脱辅基单链多肽的基因。

关于植物激素的研究工作是以 20 世纪 30 年代首次确定生长素的分子结构为标志开始进入较快的发展时期,在 50 年代取得许多重要进展,迄今已陆续确定了 5 种公认的植物激素和 10 余种内源生长物质。在 80 年代至 90 年代的研究则主要是围绕植物激素的分子作用机理而展开的,特别是利用模式植物拟南芥及其各种对激素敏感或不敏感的突变体所开展的关于植物激素受体的研究取得了重大突破。以乙烯受体研究为例,其突破主要是得益于拟南芥突变体材料的应用。根据乙烯对双子叶植物黄化幼苗茎、根细胞的伸长有显著的抑制作用(即乙烯的三重反应),利用模式植物拟南芥具有易被诱变、易于筛选突变体的优点,先后筛选出多个和乙烯作用、乙烯合成、以及乙烯生理效应有关的拟南芥突变体,如抗乙烯作用的拟南芥突变体(*etr*,ethylene-resistant)、对乙烯不敏感的拟南芥突变体(*ein*,ethylene-insensitive)、持续表现乙烯三重反应的突变体(*ctr*,constitutive triple response)等,利用这些拟南芥突变体在 90 年代很快地克隆了乙烯受体基因及其下游调控因子的基因,取得了被公认为是植物科学基础理论研究中重要成果之一的突破性进展。同时,对其他几类激素的受体或结合蛋白的研究也是硕果累累。与植物激素基础理论研究发展几乎同步得到发展的是各种植物生长调节剂在作物生长发育化学调控方面的广泛应用(参见第十二章)。

在 20 世纪下半叶获得长足发展的另一领域是有关植物逆境生理学的研究。随着世界人口的急剧增加和工业化进程的加速,全球环境恶化的问题日益严重,大气、水体、土壤等的严重污染、温室效应的加剧等不但迅速地破坏着自然生态环境,甚至直接威胁着人类赖以生存的作物生产和粮食供应。

早在20世纪80年代的统计资料就表明，由于旱、涝、盐碱等自然灾害造成的全球粮食减产就达总产的30%至40%。显然，从理论层面上阐明植物适应逆境胁迫的生长发育机理对指导作物耕作栽培、以及培育抗逆、高产、优质作物新品种有重要的理论意义。自20世纪70年代以来，植物生理学家们围绕生物膜的组成、结构和功能与植物抗逆性的关系、逆境条件下的活性氧(active oxygen)伤害和活性氧清除系统与植物抗逆性、植物"热激蛋白"及其他"逆境蛋白"的功能和表达调控、植物细胞渗透调节物质的合成代谢及调控、植物抗旱和抗盐基因的鉴定和功能研究等等与植物适应逆境的机理相关的研究开展了大量工作，到20世纪末，许多研究都已经进入了对抗逆基因的克隆和转移、以培育抗逆作物新品种的阶段。

而始于20世纪70年代、在80年代至90年代得到迅猛发展的植物生物技术及基因工程技术研究的发展和广泛应用也是得益于植物生理学领域有关植物组织和细胞培养的研究进展。植物细胞"全能性"的发现以及后来利用植物体细胞、原生质体甚至花粉再生完整植株的理论与技术的建立和逐步成熟，为后来利用异源基因或目的基因转化植物创造了必要基础和条件。目前已经在北美、南美一些国家大面积推广的转基因作物品种无一不是利用植物细胞和组织培养技术而获得的，而植物细胞和组织培养技术在许多花卉和树木种苗培育方面的应用已经逐步成为不可或缺的常规技术。

总之，植物生理学在20世纪不仅其自身得到了迅速和深入的发展，而且其取得的许多研究成果已经对其他相关学科的研究、作物栽培措施的应用和改进、作物新品种的培育等等产生了巨大影响。有关植物生理学各个方面在20世纪所取得的成就在本书各章都有介绍，在此不一一详述。

## 三、植物生理学与生产实践

虽然植物生理学是一门基础学科，但其研究对象和研究内容决定了其与以植物生产力为基础的生产实践之间的密切关系。例如，关于植物矿质营养学说的创立以及后来植物营养学研究的许多成果使化肥的广泛应用成为可能，在农作物生产中施用化肥导致的世界粮食产量剧增在保证世界人口急剧增加产生的对粮食需求的剧增方面发挥了无法估量的作用。同时，作物生产对化肥的需求又极大地刺激了化肥工业的发展。又如，有关植物激素的发现和研究使得植物生长调节剂和除草剂在作物生产中得到了广泛应用，不仅大大地提高了粮食作物的产量，也极大地提高了农业劳动生产效率，而且也促进了农药工业的发展。而在20世纪50～60年代，根据如何提高光合效率以提高作物产量而培育的矮秆、耐肥、抗倒、叶片直立、株型紧凑的禾本科作物新品种所引起的"绿色革命"，则更是充分地体现了植物生理学的理论研究成果对指导作物生产的重要作用和意义。有关植物组织和器官呼吸作用调控机制的研究则促成了现代化蔬果贮藏保鲜技术的推广应用及产业化。至于植物细胞全能性理论的确立，以及植物组织、细胞及原生质体培养等高效快速的植物无性繁殖或再生新技术，则不仅为植物基因工程的发展和新种质的创造提供了先决条件，而且也为新品种培育，以及花卉、苗木的工厂化快繁等提供了技术基础。植物生理学的基础理论研究与生产实践密切相关的事例不胜枚举，可以说，植物生理学的研究成就不仅极大地丰富了生命科学的基础理论体系，而且在历史上、特别是在20世纪曾经为以农、林业为主的产业革命做出过重大的贡献。随着植物生物技术的广泛应用，植物生理学的研究成果已经开始渗透影响至基因药物生产、生态环境保护、资源合理利用、食品加工贮藏等许多产业或行业。

在进入21世纪之际，人类面临着一系列亟待解决的难题，其中尤以人口与健康、粮食、能源、环境与资源等问题最为突出，而这些问题的解决几乎无一不与植物生理学的研究密切相关。

(1) *植物生理学与农作物生产*　植物生理学研究在历史上最突出的贡献主要在于其理论研究成果对农作物生产的影响，在21世纪可能仍然如此。

首先，曾经于20世纪中叶根据如何提高光合效率而培育出的矮秆、株型紧凑作物品种导致了作

物生产的"绿色革命"。而植物的光合效率仍大有可挖掘潜力，随着对植物高光效、光合功能保护等分子机理研究的不断进展，完全有可能通过将基因工程技术与传统杂交育种相结合而培育出新一代高光效作物品种。

植物有适应各种逆境的较强遗传潜能，随着对植物适应逆境性状功能基因组研究的开展和深入，阐明植物适应旱、涝、盐、碱以及各种生物逆境的分子机理有望在近 10 年间获得重大突破，培育各种高抗逆作物品种或转基因抗逆植物将不仅有可能极大地提高粮食总产，而且将有可能使许多昔日的不毛之地变为对生态环境有积极影响的片片绿洲。

化肥的应用曾在历史上对农业生产有过突出贡献，但长期施用化肥又带来了许多负面影响，诸如环境污染、能源消耗、食品中化学物质残留等等。植物营养生理学以及分子遗传学的研究将逐步阐明植物吸收利用各种矿质营养元素的分子机理，挖掘植物吸收利用矿质营养的遗传潜能、培育能在低浓度营养元素条件(如低钾、低磷、低氮等)下高效吸收利用自然资源并正常生长发育的作物或苗木新品种，将对资源节约型可持续农业发展做出积极贡献。

在 20 世纪兴起的设施农业为人类在恶劣自然环境中生产所需农产品立下了汗马功劳，如以色列在沙漠中建立的设施农业保证了其国民的农产品供应，而我国北方大部分地区自 20 世纪 80 年代以后的大面积蔬菜种植大棚保证了反季节蔬菜的充足供应。但设施农业中也普遍存在一些亟待解决的问题，诸如低温或高温、弱光照、病害等等，这些问题都与植物生理学的研究密切相关。植物生理学家们已经在研究植物的耐阴性、抗病性、抗寒与抗热性等问题，结合材料科学、植物病理学、育种学、土壤学、气象学以及工业和自动化等方面的研究工作，设施农业将在 21 世纪为人类生活品质的提高做出更大贡献。

随着人类文明的不断进步，人们对作物品质的要求也愈来愈高，而作物品质的形成取决于作物生长发育过程中的代谢调控。例如，是否可培育能生产出蛋白质含量较高且蛋白质中氨基酸组成合理的作物新品种，或培育富含各种人体必需维生素的蔬菜和果树新品种，而植物组织、器官或籽粒内各种物质成分的含量是由植物自身的代谢过程及其调控所决定的。因此，在植物生理学家逐步阐明各种物质代谢调控的机制的基础上，结合基因工程和育种技术就有可能有目的地通过改造作物的物质代谢调控，从而达到改善谷物、蔬菜、水果的营养品质的目的。人为地改善农产品其他品质(如口感、风味、颜色等)的道理也是类似的。

总之，植物生理学的基础研究将对未来的农业生产实践有多方面的理论指导意义，而农业生产的发展也会不断地对植物生理学的研究提出需要解决的理论研究课题。

(2) *植物生理学与生态环境保护* 地球上生长着的多种多样的植物是维系自然生态环境最重要的部分，植物利用光能吸收利用二氧化碳、同时将水分子分解释放氧气的生理过程使得其具有"净化空气"的特殊功能，而地表的各类植被所具有的巨大的涵养水体、防止地表水土流失、为野生动物提供栖息地等方面的生态功能也愈来愈被重视和利用。在保护现有植被的同时，人类在 21 世纪将面临如何有效地改造"不毛之地"的艰巨使命。例如，能在沙漠地区缺水少雨的恶劣环境下再造植被是人们的理想，而从植物生理学的角度研究植物适应干旱、盐碱的内在机制将有助于最大限度地挖掘植物自身在抗旱、抗盐碱方面的遗传潜能，从而为利用基因工程技术培育适合在各种恶劣环境下种植的植物。在如何保护原有植被、如何有效地营造人工植被、如何有效地保护濒危植物种类、如何有效地保护和利用植物的多样性等很多方面，也有许多植物生理学需要迫切研究的科学问题。

(3) *植物生理学与医药工业* 除了能更好地人工栽培和利用各种药用植物方面有许多与植物生理学研究相关的问题外，植物生物技术的发展已经使利用植物作为"生物反应器"而生产药物成为可能。例如，治疗癌症的有效药物紫杉醇、青蒿素等都是一些植物的次生代谢产物，具有极高的开发利用价值，但用传统的方法利用野生植物提取这些药物不仅成本极高，而且还严重地破坏了野生植物

资源。但在植物生理学家们阐明植物体内这些物质的代谢过程及其调控机理的基础上，利用基因工程技术有目的地改造植物的次生代谢过程，将有可能有效地提高这些次生代谢物质的产量。而植物组织和细胞培养技术的发展，也已使利用细胞悬浮培养技术建立高效的类似于微生物培养的“植物发酵”生产工艺成为可能。在不远的将来，人们将有可能将经过基因工程改造的植物细胞在类似于“发酵罐”的容器中培养，以生产人们所需的药物。与利用动物生物反应器（如动物乳腺生物反应器）和微生物发酵生产药物相比较，利用植物生物反应器还有其不可比拟的优点。因为利用动物生物反应器有可能产生一些对人体有危害的污染，如产物中病毒等病原因子的污染；而利用微生物发酵所生产的药物也可能存在毒素污染等问题。但利用植物作为反应器生产药物则相对比较安全。此外，通过有目的地改造植物的物质代谢过程，还有可能生产出有药用功能的农产品，如富含各种维生素或含有各种预防疾病免疫物质的蔬菜和水果等。

(4) *植物生理学与食品贮藏加工*　在20世纪中期以后被广泛采用的农产品收获或采摘后的贮藏保鲜技术，主要是依据了植物呼吸过程的调控原理而建立起来的。在低温、干燥、缺氧等环境条件下保存谷物、蔬菜和水果可有效地抑制植物组织和器官的呼吸作用，从而保证了农产品贮藏时间的延长。这些农产品贮藏保鲜的技术在今后将继续得到更为广泛的应用，同时，植物生物技术的发展也为通过改造或调控农产品内在的代谢过程而达到长期贮藏和保鲜的目的开辟了广阔的空间。20世纪末期，人们曾经尝试通过抑制番茄等果实内乙烯的合成而抑制其采后的呼吸作用，以达到延长其采后保存时间，研究成果已被成功应用于生产。在21世纪，随着植物功能基因组学的迅速进展以及各种代谢途径调控机制和植物抗病机理的阐明，人们将有可能更多地利用植物生理学的研究成果有效地实现对谷物、蔬菜和水果的长期保质和保鲜。当然，除了农产品的储藏保鲜外，基因工程的普遍应用也势必对食品工业带来其他方面的更为直接的影响，如有目的地使各种农产品中直接含有各种对人体有益的营养成分等。

总之，植物生理学与生产实践的关系是多方面的。如果说植物生理学在20世纪与生产实践的关系更多地体现在对农业生产的贡献方面的话，21世纪植物生理学的研究与生产实践的关系将表现在人类生活品质提高的方方面面。

## 四、21世纪的植物生理学发展前景

自20世纪80年代以来，随着分子生物学的迅猛发展和深入，许多植物生理学的传统研究工作逐步与分子生物学的研究交叉融合。例如，光合作用机理及调控的研究已经深入到探讨光合膜蛋白复合体分子结构与功能的关系、光合碳代谢关键酶的基因表达调控；植物激素作用机理的研究已深入到探讨激素与受体蛋白的分子作用机理、受体下游信号传递的分子作用机理；等等。鉴于这些情况变化，一些原来的植物生理学国际学术组织、甚至一些权威的国际植物生理学期刊杂志也在酝酿讨论原有名称的改变。如原来的《植物生理学年评》(Annual Review of Plant Physiology)在80年代后期改为《植物生理学与分子生物学年评》(Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology)；原“美国植物生理学家学会”于2000年更名为“美国植物生物学家学会”；最近(2002年2月)原美国植物生理学家学会又开始酝酿是否将已创刊70余年的《植物生理学》(Plant Physiology)杂志改名为《植物生物学》(Plant Biology)或《植物》(Plant)。与此同时，国内外植物生理学界也在不断地讨论植物生理学作为一个学科的独立性问题。事实上，一些相关名称或提法的改变并不一定能完全改变其内涵，在某种程度上可能只是一种顺应“潮流”的变化，如一些相关学会和期刊杂志更名的主要理由之一就是为了吸引更多的人参加学会或投稿。

应该说，植物生理学研究内容不断发展的趋势是必然的和合理的，事实上任何学科都是处于不断的发展进程中的。如分子生物学的发展也是如此，在20世纪70～80年代，分子生物学家们主要致力

于对某个或某些基因的序列分析，但进入90年代以后则逐步开始研究基因的表达调控、基因功能、不同基因间的互作，并在20世纪末期已全面进入功能基因组的研究时代。如果从发展的观点来分析植物生理学研究内容的变化，植物生理学与细胞生物学、生物物理学、分子生物学等相关学科的交叉、融合以及相互影响只能会促进所有学科的共同发展。而对于植物生理学作为一个学科或领域而言，只有当它与其他学科达到"水乳交融"的状况，其自身才有可能不断得到发展与壮大。

如果将植物生理学与整个植物科学的发展趋势结合起来考虑，不难得出植物生理学在21世纪将进一步得到发展壮大的结论。随着拟南芥、水稻等模式植物基因组全序列测序工作的完成，植物科学界普遍认为其整体研究工作的重点将逐步转向"功能基因组"的研究，即研究与植物生长发育调控机理、作物重要农艺性状(如抗旱、抗盐、抗病、水分养分高效利用、产量与品质形成等)表达密切相关的基因的功能及相互作用。而从"基因表达"到"性状表达"之间的过程是通过植物体内一系列信息传递、能量与物质代谢等复杂的活细胞的生理生化过程及其调控环节来实现的，而"植物生理学"正是在植物整体、组织器官、细胞及分子水平上研究这些复杂生命活动过程及其调控机理的科学，其研究和探讨的核心内容是植物生命活动过程中的"功能及其调控机理"。从学科间的相互关系上分析，"植物生理学"的研究正是基因水平的研究与性状表达研究之间的"桥梁"。换言之，21世纪的植物生理学将逐步发展成为围绕植物生命活动过程的"功能实现及其调控机理"、在植物功能基因组的水平上全面探讨植物生长发育分子机理的全新学科。植物生理学将在研究和阐明一些植物科学领域的重要基础理论问题的同时，不断地为植物生物技术、农作物耕作栽培、作物和经济植物新品种的培育、生态与环境保护、以植物为材料或对象的药物生产和食品加工贮藏等应用科学研究提供强大的理论指导和技术支撑。

**思考题**

(1) 植物生理学的主要研究内容是什么？如何理解植物生理学与分子生物学等学科的关系？

(2) 植物生理学的发展大致经历了哪三个阶段？其发展与科学技术整体发展水平的关系如何？

(3) 植物生理学与生产实践的关系主要表现在哪些方面？举例说明植物生理学的理论研究成果对生产实践的指导作用。

(4) 讨论21世纪植物生理学的发展前景。

# 第一部分　植物细胞、水分与矿质营养

## 第一章　植物细胞

细胞是生命活动的基本单位。细胞不仅是有机体结构的基本单位，而且是代谢和功能以及遗传的基本单位。同时，细胞的分裂、生长和分化也是有机体生长和发育的基础。因此，了解细胞的生命活动是阐明有机体生命活动的基础。植物生理学主要以高等植物为研究对象，因此本章内容将以高等植物细胞为主，对其结构和功能加以介绍，其中叶绿体和线粒体将在光合作用和呼吸代谢的有关章节中介绍。植物细胞的生理功能也是植物体生理功能的基础，在本章中将对各细胞器的功能作一个概括性的介绍，具体的有关植物细胞功能的内容将贯穿于本书的各个章节。

### 第一节　细胞概述

从进化的角度看，不同生物的细胞都来源于共同的祖先，因此它们都具有一些共同的基本特性。例如，不同来源的细胞都具有基本相同的化学组成，如蛋白质、核酸、脂类和糖类等；它们都具有磷脂双分子层和镶嵌蛋白组成的生物膜；所有细胞都以 DNA 和 RNA 作为遗传和转录载体；并都具有蛋白质的合成机器——核糖体；而一分为二的分裂方式是所有的细胞进行增殖的共同方式等等。但是，在进化的过程中，不同生物采用了不同的方式来适应其所生存的环境，因此它们的细胞也产生了各自不同的特性。

#### 一、原核细胞和真核细胞

传统上细胞可分为原核细胞(procaryotic cell)和真核细胞(eucaryotic cell)两大类。顾名思义，这样的分类是基于细胞是否具有典型的核结构。由原核细胞构成的有机体称为原核生物(prokaryote)；由真核细胞构成的有机体称为真核生物(eukaryote)。几乎所有原核生物都是由单个原核细胞构成的，而真核生物有多细胞的真核生物和单细胞的真核生物。原核细胞和真核细胞的区分虽然是以细胞是否有具核膜的核来判断的，而事实上，原核细胞和真核细胞无论在细胞结构、细胞的组成、细胞的代谢以及细胞的遗传方面都有很大的差别(表 1-1)。

无论是原核细胞或者是真核细胞都来源于共同的祖先，即所谓的原始细胞。而对于原核细胞和真核细胞在进化上的关系，一般认为真核细胞起源于原核细胞。但是近年来的研究表明，原核生物在地球的极早时期就已分化为真细菌(eubacteria)和古细菌(archaebacteria，或称原细菌)。古细菌在许多特性上与真细菌不同而却与真核生物类似。例如，古细菌的壁与真核细胞壁类似，没有真细菌壁中含壁酸的肽聚糖成分；古细菌的 DNA 与真核细胞 DNA 类似，具有重复序列和内含子，而真细菌 DNA 不具上述结构；古细菌的核糖体与真细菌的核糖体组成有较大差异；不同抗生素可以抑制真细菌的蛋白质合成却不能抑制古细菌的蛋白质合成，这一点是和真核细胞相同的；此外，对 5S rRNA 的进化分析表明，古细菌与真核细胞属一大类而与真细菌相去甚远。因此，真核细胞很可能起源于古细菌。因

表 1-1 原核细胞和真核细胞遗传结构装置与基因表达的比较(翟中和 1996)

| 特　征 | 原核细胞 | 真核细胞 |
| --- | --- | --- |
| DNA 量(信息量) | 少 | 多 |
| DNA 分子数 | 1 | 2 个以上 |
| DNA 分子结构 | 环状 | 线状 |
| 基因组数 | 1$n$ | 2$n$,多 $n$ |
| 基因数 | 几千 | 大于几万、十万 |
| 大量"多余"的,"重复"的 DNA 序列 | − | + |
| 基因中插入内含子 | − | + |
| DNA 与组蛋白结合 | 不与或与少量类组蛋白结合 | 与 5 种组蛋白结合 |
| DNA 与组蛋白以核小体及各级高级结构构成染色质与染色体 | − | + |
| DNA 复制的明显周期性 | − | + |
| 基因表达的调控 | 主要以操纵子方式 | 复杂性,多层次性 |
| 转录与翻译的时空关系 | 转录与翻译可以同时进行 | 核内转录,细胞质内翻译,严格的阶段性与区域性 |
| 转录后与翻译后大分子的加工与修饰 | − | + |
| 细胞复制与分裂(DNA 传递与分配) | 无丝分裂 | 有丝分裂,减数分裂 |

此从进化角度来看,原始细胞首先分支出真细菌和古细菌的祖先,然后才由古细菌的祖先分支出古细菌和真核生物,古细菌和真核生物具有共同的祖先。因此自然分类法上并不以有无细胞核为分类依据,而把生物分为三大域(domain):真细菌(eubacteria)、古细菌(archaebacteria)和真核生物(eukaryocyte)。而植物界则包括红藻和绿藻以及陆生植物。在陆生植物中又有苔藓植物(bryophyte)、蕨类植物(fern)和种子植物等。

## 二、高等植物细胞

不同植物的细胞以及植物不同组织的细胞间有很大的差异。巨型的植物细胞,如轮藻(*Chara*)的节间细胞可以有数厘米长,约 1mm 粗细,而植物分生组织的细胞直径仅为十几微米。大多数高等植物细胞的直径大约为几十微米。高等植物体是由多细胞组成的,植物体的细胞高度分化,不同组织的细胞间也存在很大的差异。典型的高等植物细胞如图 1-1 所示。

与动物细胞相比,植物细胞具有许多显著不同的特性。高等植物的绝大多数细胞都具有坚硬的外壁——细胞壁。植物的许多基本生理过程,如生长、发育、形态建成、物质运输、信号传递等等都和细胞壁有关。高等植物可以进行光合作用,在从事光合的高等植物细胞中具有叶绿体。光合作用和具有细胞壁可能是植物祖先最早产生的有别于其他生物的重要特征。在许多高等植物细胞中都有一个相当大的中央大液泡,这也是高等植物细胞的重要特征之一。中央大液泡在细胞的水分运输、细胞的生长、细胞代谢等等许多方面都具有至关重要的作用。对于动物细胞而言,细胞通常有一定的"寿命",细胞在若干代之后会失去分裂的能力,但是植物分生组织的细胞通常具有无限生长的能力,可以永久地保持分裂能力。此外,植物细胞的全能性早已为科学实验所证实并在生产实践中得到广泛的应用。因此,植物细胞在生长和分化的控制机制方面可能与动物细胞有相当大的不同。

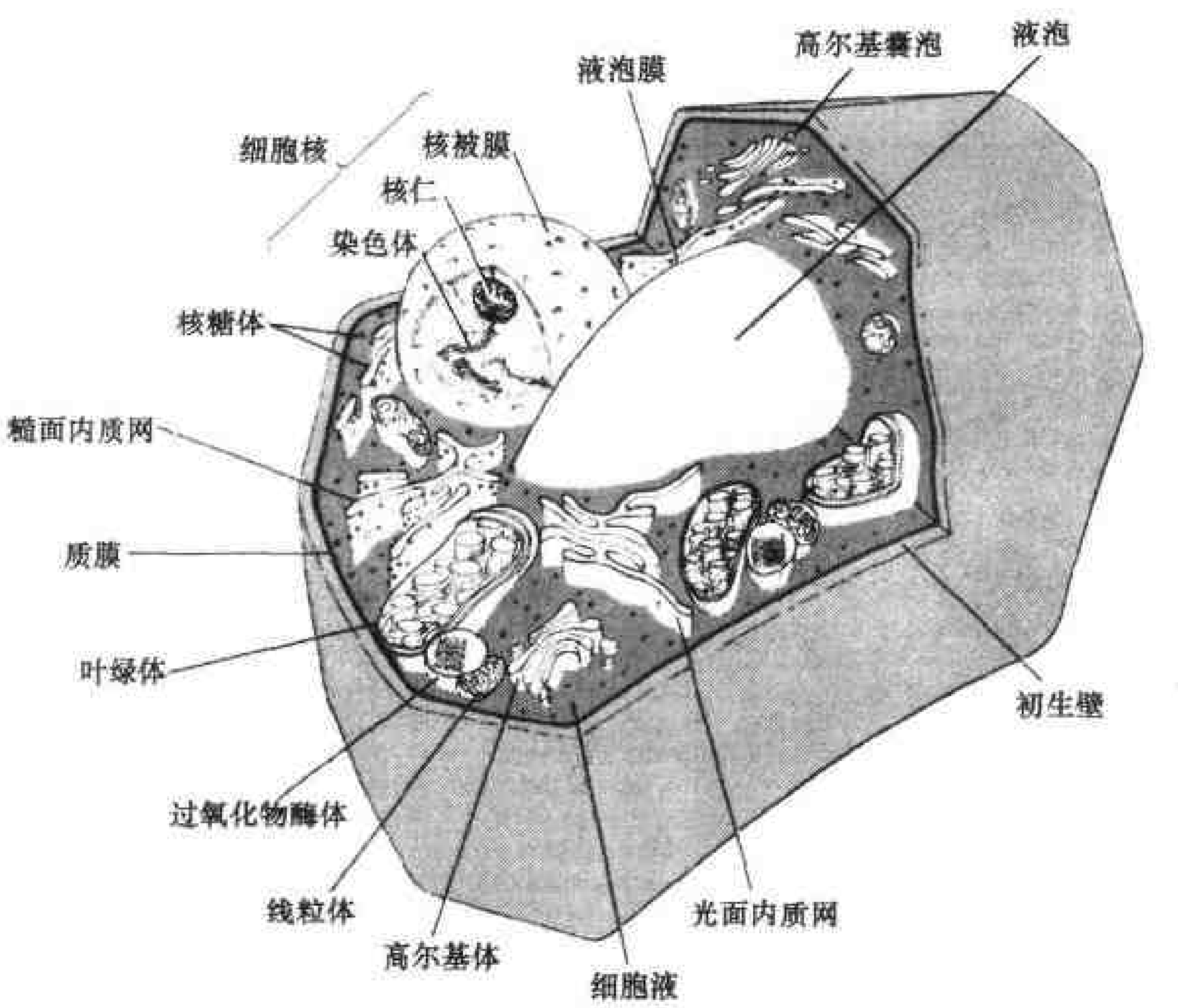



图 1-1　高等植物细胞模式图（Taiz & Zeiger　1998）

# 第二节　细胞的膜系统

生物膜的产生是生命进化过程中极其重要的事件。没有细胞膜也就没有细胞的产生，细胞是以细胞膜为界而独立于周围环境的。此外，在细胞中大多数细胞器是由膜围成的，这些细胞器分别执行着极其重要的生理功能。生物膜通常具有类似的基本结构，例如它们都是由脂类和蛋白质为基本组成所构成的单位膜结构。因此生物膜具有一些共同的物理特性，如：生物膜对水有较高的透性，水分子很容易透过膜；脂溶性的物质也较容易透过生物膜；但是离子或带电荷的分子则很难透过生物膜，因为生物膜具有较高的电阻，电阻率一般为 $10^9 \sim 10^{11}\Omega \cdot cm$，当然在生活细胞中由于膜上离子通道和离子载体的存在膜电阻是可变和受到调控的；此外，膜蛋白的存在使生物膜表面张力降低，在生理 pH 下膜表面带负电荷等等。但是细胞中不同的膜，如细胞膜、叶绿体膜或线粒体膜等等一般具有独特的功能，构成这些膜的脂类常有一些差异，特别是膜蛋白更有重要的差别。膜的多种多样的功能和生理特性主要是由膜上的蛋白质所决定的，而膜脂和膜蛋白的相互作用也是影响膜功能的重要原因。

## 一、质　　膜

质膜（plasma membrane）也称细胞膜，是指包围着原生质的一层界膜。质膜的存在使细胞相对独立于外界环境因而生命活动得以在一个相对稳定的微环境中进行，同时质膜又在细胞与外界环境进行不断的物质和信息的交流过程中起着非常重要的作用。

### （一）质膜的主要化学组成

质膜的主要成分是脂类和蛋白质。

**1. 膜脂**

膜脂主要包括磷脂、糖脂和胆固醇三类。

(1) 磷脂　磷脂是构成膜脂的基本成分，约占整个膜脂的50%以上。磷脂可分为甘油磷脂和鞘磷脂两类。甘油磷脂中又包括磷脂酰胆碱(卵磷脂)、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇等。磷脂分子由一个磷脂酰碱基(称为头部)和两条脂肪酸链(称为尾部)所组成，磷脂酰碱基和脂肪酸两部分通过甘油基团衔接，磷脂酰碱基头部有磷酸和碱基，极性很强，亲水，而脂肪酸链的尾部为非极性，疏水。因此磷脂分子具有亲水和疏水的双重特性，在水系统中会形成双分子层磷脂结构，极性头部伸向双分子层的表面，而疏水的尾部则伸向双分子的内侧。

(2) 糖脂　糖脂与磷脂的结构类似，只是由一个或多个糖基代替了磷脂酰胆碱而与鞘氨醇的羟基结合。糖脂在膜脂中的含量一般在5%以下。

磷脂和糖脂的两条脂肪酸链的长度常在14～24碳原子之间，其中之一通常为饱和脂肪酸而另一条则为非饱和脂肪酸。这种非饱和性使得脂类分子在双分子层中不能紧密排列，这对于保持膜的流动性是十分重要的，而膜的流动性对于膜的许多生理功能又是至关重要的。影响膜流动性的一个重要因素是温度，但是植物无法移动或调节自身的温度，因此植物细胞膜常有较高的非饱和脂肪酸的比例。

(3) 胆固醇　胆固醇在加强膜的流动性、稳定膜结构和降低水溶性物质的膜通透性等方面有作用。

**2. 膜蛋白**

膜蛋白赋予细胞膜非常重要的生物学功能，例如接受外界信号分子的受体蛋白，进行物质运输的载体蛋白和通道蛋白，催化各种反应的酶蛋白等等。根据膜蛋白分离的难易及其与脂分子的结合方式，膜蛋白可分为两大基本类型，外在膜蛋白(extrinsic membrane protein)或称外围膜蛋白(peripheral membrane protein)和内在膜蛋白(intrinsic membrane protein)或称整合膜蛋白(integral membrane protein)。外在膜蛋白为水溶性蛋白，靠离子键或其他较弱的键与膜表面的蛋白质分子或脂分子结合，因此只要改变溶液的离子强度甚至提高温度就可以从膜上分离下来，膜结构并不被破坏。内在膜蛋白多数为跨膜蛋白(trans-membrane protein)，与膜结合非常紧密，它与膜结合的主要方式为：①膜蛋白的跨膜结构域与脂双层分子的疏水核心相互作用；②膜蛋白跨膜结构域的两端携带正电荷的氨基酸残基与磷脂分子带负电的极性头部形成离子键，或带负电的氨基酸残基通过 $Ca^{2+}$、$Mg^{2+}$ 等阳离子与带负电的磷脂极性头相互作用；③某些膜蛋白在细胞质基质一侧的半胱氨基酸酸残基上共价结合脂肪酸分子，插入脂双层之间，进一步加强膜蛋白与脂双层的结合力；还有少数蛋白与糖脂共价结合；因此只有用去垢剂使膜崩解后才能将内在膜蛋白分离出来。

## (二) 膜的结构模型

在细胞膜的研究历史中曾经有若干膜结构模型提出，例如1935年Danielli和Davson提出质层(或板层)结构模型，1959年Robertson提出单位膜模型，以及目前较为公认的流动镶嵌模型等。

流动镶嵌模型是由Singer和Nicolson于1972年提出的(图1-2)。该模型认为：细胞膜结构是由液态的脂类双分子层中镶嵌可以移动的球形蛋白质而形成的。随着科学研究技术的不断创新和改进，流动镶嵌模型也逐步得到完善，成为目前比较公认的膜结构模型。这一模型强调两点。①膜的流动性，膜蛋白和膜脂均可侧向移动。膜脂的侧向运动可以达到相当高的速度，其扩散速度约为2μm/s。侧向运动是膜脂的基本运动方式，具有重要的生物学意义。膜脂的其他运动方式还有膜脂

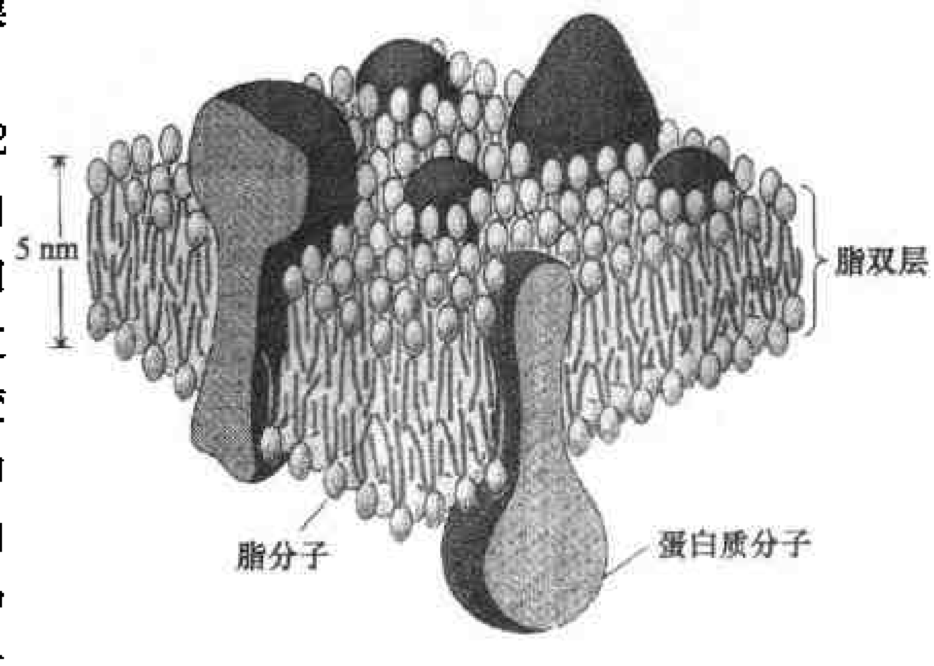


图1-2　流动镶嵌模型示意图 (Taiz & Zeiger　1998)

分子的自旋，膜脂尾部的摆动，双层膜脂间脂分子的“翻转”移动等。②膜蛋白分布的不对称性，球形蛋白质有的镶嵌在膜的内或外表面，有的嵌入或横跨脂双分子层。不同的膜在功能上的差别可以用镶嵌在脂类双分子层中的蛋白质的种类和数量上的不同来解释。

根据流动镶嵌模型，膜脂和膜蛋白由于膜的流动性将趋于均匀分布，但是近年的研究结果却发现许多膜蛋白的分布是有区域性的，膜蛋白的扩散也受到一定的限制。因此提出对流动镶嵌模型的修正，认为膜在其细胞质一侧有细胞骨架系统，膜下的细胞骨架系统可能有“锚定”膜蛋白及限制膜蛋白扩散的作用，从而将膜蛋白定位于特定的区域。此外细胞膜中约有20%～30%的磷脂是与蛋白质结合的，称之为界面脂(boundary lipid)，其流动性也受到膜蛋白性质和数量的制约。因此膜组分的空间分布是非均质的，是受到细胞精密组织和控制的。

### （三）质膜的功能

质膜是细胞原生质的界膜。对于大多数大分子物质和极性分子来说，质膜是不透性的，即它们不能经扩散作用通过质膜。因此，质膜的存在使细胞相对独立于外界环境，形成一个稳定有序的，有利于细胞生命活动进行的内部环境。但是生活细胞必须与其外界环境不断地进行信息和物质的交流，而且这种交流必须是有序的、特异的和受严格调控的。质膜在细胞内外物质和信息的交流方面起着至关重要的作用，质膜上的各种膜蛋白如运输载体、离子通道、信号和激素受体等等促进和(或)控制着跨膜的物质运输和信息传递。有关质膜上的膜蛋白的各种相关功能将在以后的章节中分别进行介绍。总而言之，细胞膜功能对于细胞的生命活动是根本性的，任何对细胞膜的伤害最终将导致细胞的死亡。从进化的角度来说，细胞膜的产生也可能是原始细胞产生的最初事件。

## 二、内膜系统

在细胞中存在许多由膜包围而形成的细胞器，这些细胞器组成一个在结构、功能或发生上具连续性的膜系统，称为内膜系统。在植物细胞中，内膜系统通常包括内质网、高尔基体、液泡以及它们形成的分泌泡等等。

**1. 内质网**

内质网(endoplasmic reticulum，ER)是真核细胞重要的细胞器，它是由封闭膜系统以及互相沟通的膜腔而形成的网状结构(图1-3)。内质网膜是与细胞膜结构类似的单位膜，并且常与细胞核的外膜连在一起。内质网按其表面有无核糖体分为光面内质网(smooth ER)和糙面内质网(rough ER)两类。光面内质网常为管状结构，而糙面内质网在形态上常为扁平的囊状结构。内质网是一个高度动态的结构，它的结构形态、在细胞中的分布以及光面和糙面内质网的比例都会随细胞类型和细胞周期时相的不同以及细胞环境的改变而发生变化。光面内质网主要功能是进行脂类物质的合成，而糙面内质网则是膜蛋白和分泌蛋白的主要合成场所。

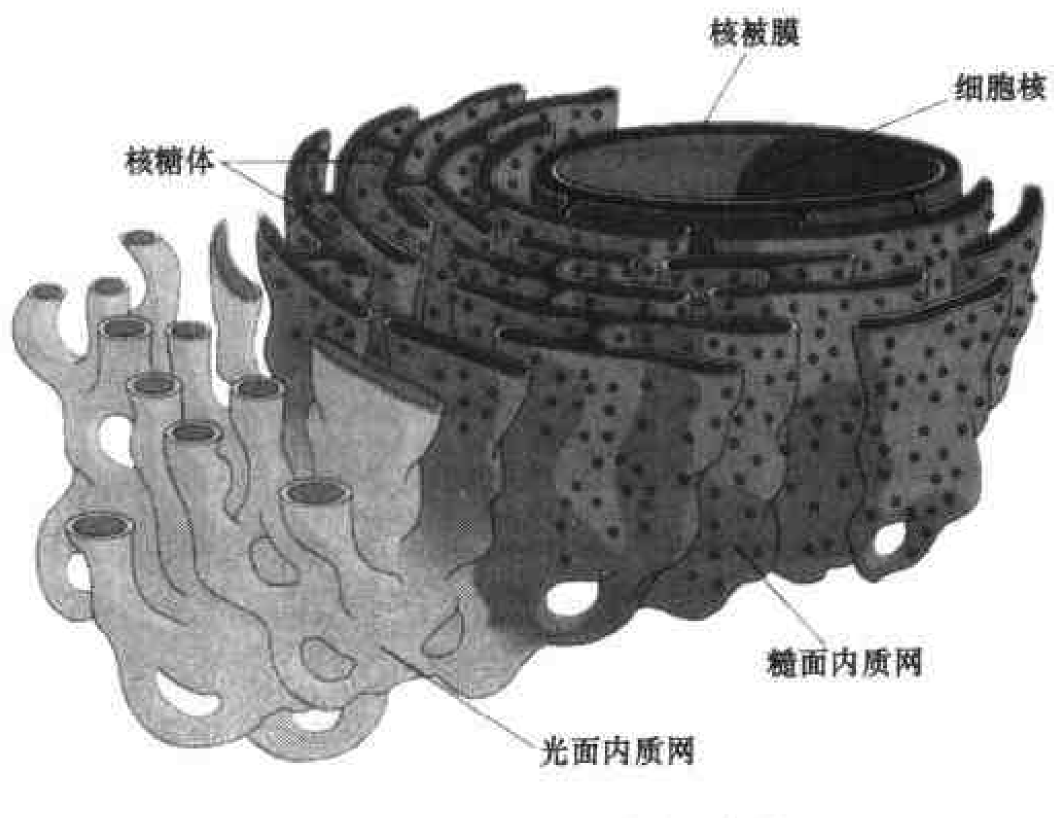


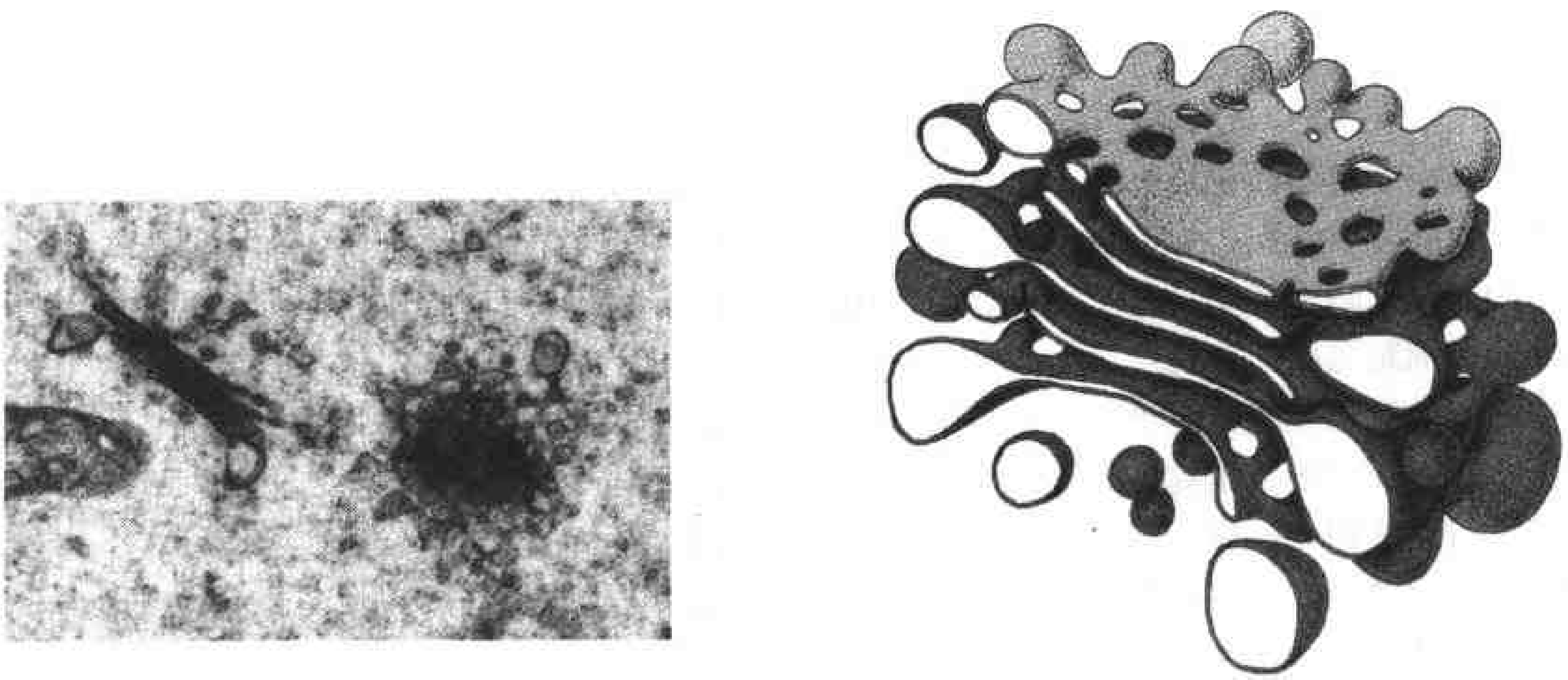
图1-3 细胞内质网结构示意图

蛋白质在糙面内质网上的合成不仅是

蛋白质的合成过程，同时也是所合成蛋白的分选(sorting)过程。所有分泌蛋白和大多数膜蛋白的N端都有一段18～30个氨基酸残基的疏水的序列，称之为信号序列(signal sequence)，即信号肽。蛋白质的合成首先是在细胞质中的核糖体上开始的。当翻译过程完成信号肽的合成后，该信号肽即被细胞质中的信号识别颗粒(signal recognition particle, SRP)所识别并与之结合，这时正在进行的翻译过程被中止，直至SRP与内质网膜上的SRP受体[又称停泊蛋白(docking protein)]结合，之后信号识别颗粒脱离信号序列和核糖体，返回细胞基质中被重复使用，肽链延伸又重新开始。信号肽则引导肽链进入内质网腔中，肽链继续延伸直至完成整个多肽链的合成。信号肽则被腔面上的信号肽酶所切除。所合成的进入内质网的蛋白质被装入小囊泡，或送到高尔基体进行进一步的加工，或经分泌排出细胞。如果肽链中有某些序列与内质网膜有很强的亲和力而结合在脂双层中，那么这种多肽就会停留在膜脂中成为跨膜蛋白。

**2. 高尔基器**

高尔基器(Golgi apparatus)或称高尔基复合体(Golgi Complex)，是普遍地存在于真核细胞内的一种重要的细胞器。高尔基器是由若干个堆叠在一起的排列较为整齐的扁平膜囊的垛堆(stack)所构成，每一个垛堆称为高尔基体(Golgi body)。高尔基体的扁囊多呈弓形，膜囊周围又有大量的大小不等的囊泡结构，中间囊腔较窄，周缘多呈泡状(图1-4)。高尔基体是一种有极性的细胞器，从内质网来的分泌蛋白小泡从高尔基体的一侧进入，从另一侧输出，因此每层膜囊也各不相同。在很多细胞中，高尔基体靠近细胞核的一面，扁囊弯曲成凸面又称形成面或顺面(cis face)，面向细胞质膜的一面常呈现凹面又称成熟面或反面(trans face)。植物细胞中可以有上百个高尔基体分布在整个原生质中。



a.高尔基体亚显微结构　　b.高尔基体结构模型

图1-4　高尔基体结构(Salisbury　1992)

高尔基体的主要功能是将内质网合成的多种蛋白质特别是糖蛋白进行加工、分类与包装，然后分门别类地运送到细胞特定的部位或分泌到细胞外。对于植物细胞来说，高尔基体在细胞壁的建造中有非常重要的作用。细胞壁中除纤维素以外的成分，如木质素、半纤维素、果胶等都要在高尔基体中进行合成，细胞壁中的一些糖蛋白也要在高尔基体中进行加工。在高尔基体中合成和加工后的多糖和糖蛋白被包装成分泌囊泡，然后运送到细胞膜并与之融合，将细胞壁物质运送到细胞外进行细胞壁合成的部位，参与细胞壁的合成。分泌囊泡分为光滑分泌泡(smooth secretory vesicle)和有被囊泡(coated vesicle)。有被囊泡的表面有包涵蛋白[或称网格蛋白(clathrin，亦称笼形蛋白)]，包涵蛋白和其他多肽组成网格状的多面体囊泡包被。在植物细胞中有被囊泡可能在储藏蛋白的运输中起重要作用。

在细胞中有许多糖蛋白，例如溶酶体中的水解酶类，多数细胞质膜蛋白和分泌蛋白都是糖蛋白，而糖蛋白的糖基化都在粗面内质网和高尔基体中进行。根据寡糖链与肽链氨基酸结合的方式可分成两大类不同的糖基化修饰，即 *N*-连接（连接到天冬酰胺的酰胺 N 原子上）和 *O*-连接（连接到丝氨酸、苏氨酸残基的羟基上）糖基化。*O*-连接的寡糖形成的糖蛋白主要或全部是在高尔基体内合成的，而 *N*-连接的寡糖糖蛋白的合成是在内质网腔内，但糖蛋白的合成、修饰的最终完成通常是在高尔基器内。

**3. 中央大液泡**

大多数植物细胞都有一个很大的，充满水溶液的中央大液泡。中央大液泡（central vacuole）由一层单位膜——液泡膜所包围。液泡最初发生是在根尖和茎尖的分生组织中，以很小的原液泡（provacuole）的形式存在。原液泡来源于靠近高尔基体的成熟面的内质网，原液泡具有溶酶体的性质，其中含有许多酸性水解酶，能够分解细胞内的蛋白质、核酸、脂类和多糖等等多种物质。随着细胞的成熟，原液泡通过吞噬细胞质和水合作用逐渐扩大并融合在一起最终形成中央大液泡。中央大液泡是成熟细胞的重要特征。在成熟细胞中中央大液泡可以占细胞体积的 80%～90%以上，而细胞质只是围绕在中央大液泡外的薄薄的一层。在许多细胞中，细胞质形成丝状结构跨越中央大液泡，称为跨液泡索（transvacuolar strand），跨液泡索是由液泡膜所包围的，在其中通常进行着频繁的胞质流动。

植物细胞的中央大液泡中含有多种酸性水解酶，如酸性磷酸酶、蛋白酶、核酸酶、酯酶、糖苷酶和氧化还原酶等，可以分解蛋白质、核酸、脂类及多糖等多种物质，因此具有溶酶体的性质。中央大液泡可以通过“自体吞噬”作用消化细胞质组分，例如橡胶树乳管中的一些乳液成分即液泡通过自体吞噬作用消化细胞质的产物。中央大液泡的溶酶体性质还可能在分解衰老和储藏细胞以便再利用的过程中起作用。在中央大液泡中的多种水解酶被释放进入细胞会引起细胞的自溶和降解，这在细胞的衰亡过程中是很重要的。外部侵入的病原物或“异源物”也可能被液泡吞噬和消化。

增加植物细胞的面积是中央大液泡的一个重要功能。中央大液泡依靠水的吸收使其体积增加，因而使植物细胞的体积大为扩大，细胞体积的扩大伴随着细胞表面积的增加，因而细胞从外界所获得的物质和能量也随之增加。由于水被储藏在液泡中，因此这样的增加体积的方式并不会造成细胞质的稀释而对细胞造成伤害。

中央大液泡通过跨液泡膜的运输积累物质，从而引起水分的吸收，提高了细胞的膨压。细胞的膨压对于细胞生长和维持植物体的紧张性是必需的。植物细胞的伸长生长只有当其膨压超过一定的阈值方能进行。植物，特别是一些草本植物的形态的维持需要细胞保持一定的膨压，当缺水膨压降低时植物就会发生萎蔫。某些植物运动也和膨压的变化有关，例如植物的气孔运动就是通过保卫细胞的膨压变化而实现的。

中央大液泡又是细胞内重要的物质储藏库。中央大液泡与细胞质间进行着活跃的物质交流。液泡膜上有许多载体、离子通道、离子泵等用于细胞质和液泡间的物质运输。这种物质的运输对于细胞正常生命活动的进行是至关重要的。中央大液泡中是酸性的水溶液，其中含有无机离子、糖、酶、其他有机物等等，这些物质可以储存在液泡中在需要时被再运输到细胞质，细胞质中的由于代谢产生的某些有害物质也可以运输到液泡以保持细胞正常生理活动的进行。液泡也是种子存储蛋白、脂肪和糖类物质的重要场所。在种子中大量存在的蛋白体（protein body）是特殊的蛋白储藏液泡。当种子萌发时，蛋白体中的蛋白质发生水解成为氨基酸并被运出液泡，参与新的蛋白质合成。种子胚乳中的糊粉层也是由于蛋白质存储在液泡中形成的。在油类种子中，脂肪物质被储存在液泡形成圆球体。甜菜的块根和甘蔗茎中蔗糖的大部分也是储存在液泡中。

此外液泡中还有一些十分重要的次生代谢物质，例如各种生物碱、酚类物质、多聚萜烯化合物以及花色素苷和甜菜苷等等。生物碱中的如人参皂苷、吗啡、奎宁等有重要的药用价值，酚类物质中的

单宁，多萜类中的橡胶等是重要的工业原料，而植物花瓣、果实的丰富的颜色是由液泡中的花色素苷形成的。

**4. 过氧化物酶体和乙醛酸循环体**

微体(microbody)是一大类由单层膜构成的细胞器，普遍存在于真核细胞中。植物细胞中主要的两类微体是过氧化物酶体(peroxisome)和乙醛酸循环体(glyoxysome)。过氧化物酶体催化下列反应：

$$RH_2 + O_2 \longrightarrow R + H_2O_2 \qquad H_2O_2 \longrightarrow H_2O + 1/2\ O_2 \qquad (R\text{代表有机物})$$

因此，过氧化物酶体是通过消耗氧气来消除有机物的氢。叶肉细胞中过氧化物酶体常与叶绿体和线粒体在一起，参与光合细胞中的光呼吸过程(参见第七章)。

乙醛酸循环体是植物特有的微体，通常存在于萌发期间的油性种子中。乙醛酸循环体具备乙醛酸循环的酶，因此在种子萌发时可以将储存脂肪酸转化为糖，以便运输及利用。

## 三、细　胞　核

细胞核是细胞内最大也是最重要的细胞器。细胞核中包含了细胞的主要的遗传物质，即核基因组。核基因组的表达和调控对于植物体的代谢、生长和发育都起着决定性的作用。植物的基因组的大小变化很大，例如拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的基因组 DNA 约 $1.5\times10^8$ 碱基对，而某些裸子植物的基因组 DNA 可达 $2\times10^{11}$ 碱基对。虽然叶绿体和线粒体也具有自身的基因组，但是其编码的基因只能部分满足其结构和功能的需要，而叶绿体和线粒体中的大部分蛋白质仍然是由核基因编码的。

### (一) 细胞核的结构

典型的细胞核结构如图 1-5 所示。

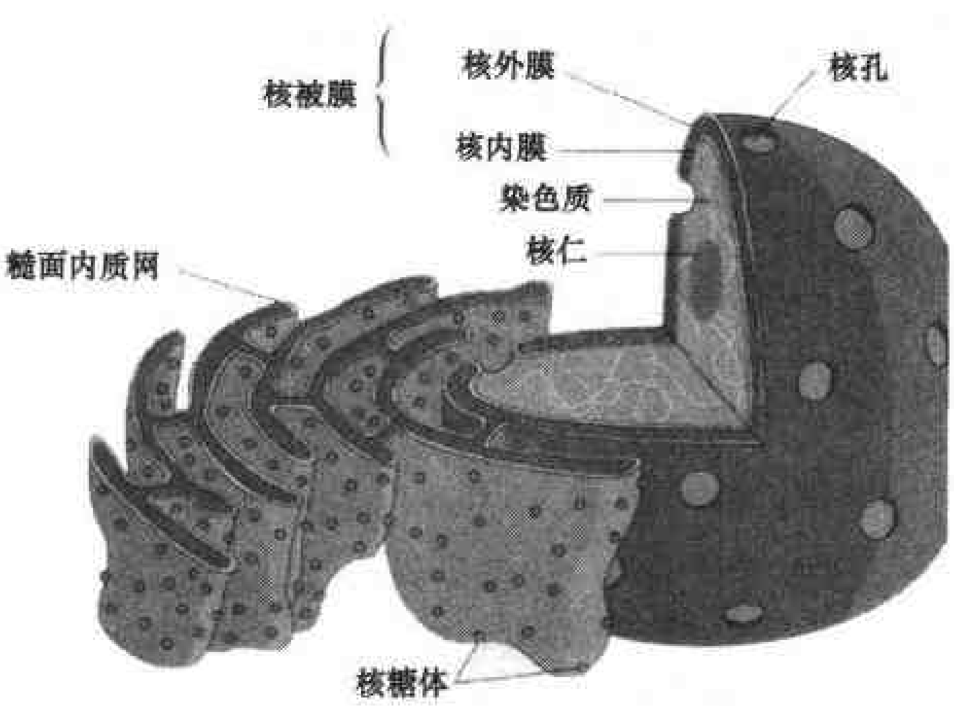



图 1-5　细胞核的模式结构示意图

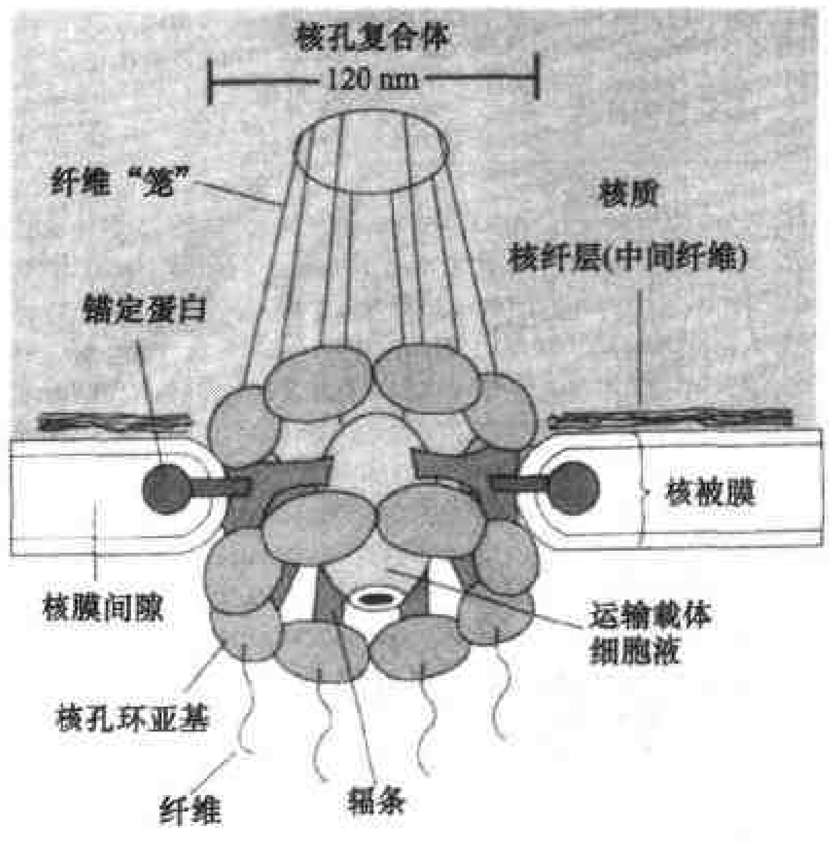



图 1-6　核孔复合体模型的示意图(Pecker et al. 1996)
在核孔的核被膜的外膜侧和内膜侧各有 8 个蛋白亚基组成环形结构，核外膜侧(细胞质一侧)的环称为胞质环，核内膜侧(细胞核一侧)的环称为核质环，在环的中央有运载体或称栓，从核孔的中央腰部有辐射臂伸出到核周隙，并由锚定蛋白将核孔复合体连接到核膜上。胞质环向细胞质发出丝状结构。核质环向核内伸出丝状物，并在其末端形成小环，组成一个滴漏状的笼形结构。

**1. 核膜**

核膜是细胞核的界膜，它是由内外两层平行的单位膜组成，分为外核膜(outer nuclear membrane)和内核膜(inner nuclear membrane)。外核膜面向胞质，表面有大量核糖体颗粒，常与糙面内质网相连续，所以可将外核膜视为内质网膜的一个特化区域。内核膜也由一个单位膜组成，面向核质，表面光滑，无核糖体颗粒。内核膜的核内一侧有一层蛋白网络结构称为核纤层(nuclear lamina)，核纤层为核膜及染色质提供结构支架，并介导核膜与染色质之间的相互作用。在内外核膜之间宽 20～40 nm 的间隙称为核周腔(perinuclear space)，与内质网腔相连通。

在细胞核的表面，内、外核膜在一定部位彼此融合，形成许多环状开口，称之为核孔(nuclear pore)，是核和细胞质间的重要通道。核孔的直径一般在 40～100 nm 间，其密度一般为 35～60 孔/$\mu m^2$。核孔的密度和总数与细胞类型有关，通常情况下，转录活性低或不进行转录的细胞，核孔少；转录活性高或生理机能旺盛的细胞，核孔多。核孔实际上是由多达百种的蛋白质所组成的蛋白复合体，因此称为核孔复合体(nuclear pore complex)(图 1-6)。

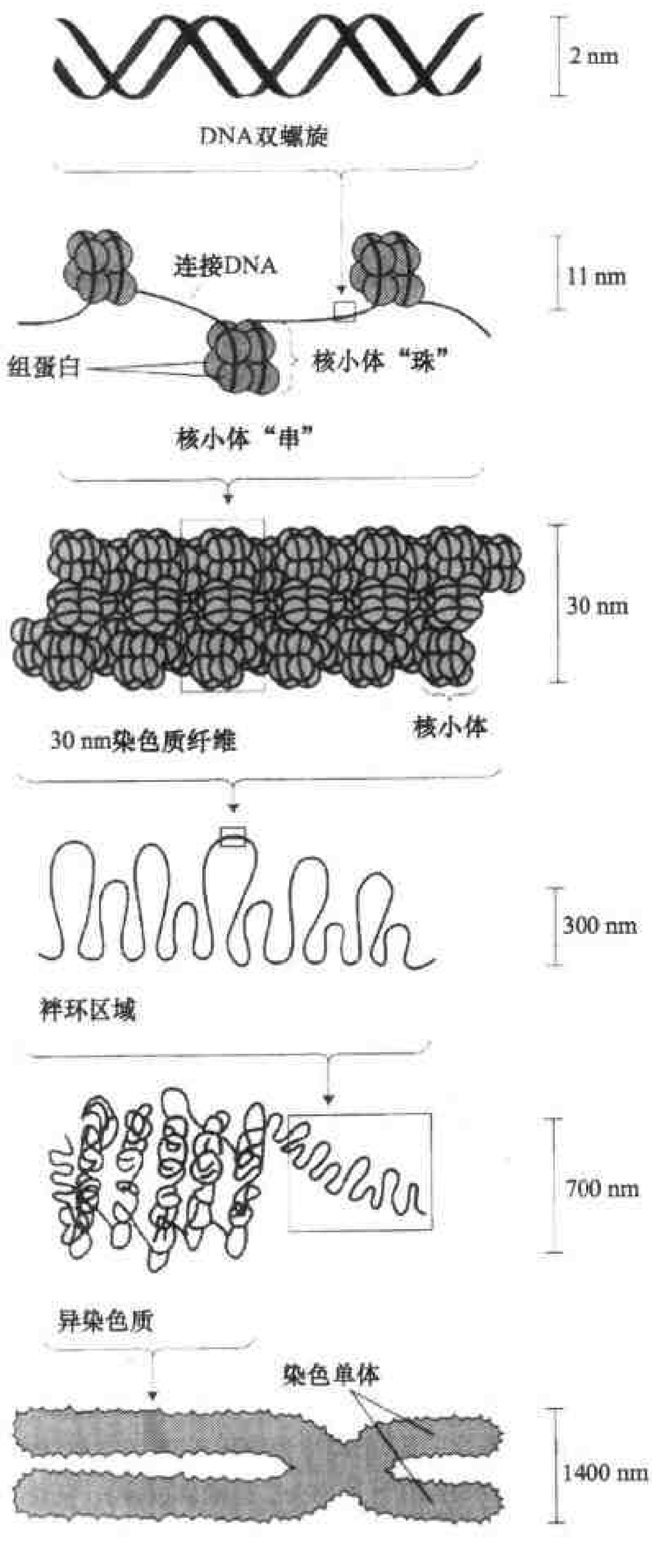



图 1-7　中期染色体 DNA 包装示意图
(Alberts et al. 1994)

**2. 染色体**

细胞核是染色体存储和复制的部位。

染色质是间期细胞遗传物质存在的形式，是由 DNA、组蛋白、非组蛋白及少量 RNA 组成的线状复合结构。染色体是指细胞在有丝分裂或减数分裂过程中，由染色质聚缩而成的棒状结构。二者在化学组成上的差异并不大，其区别主要在于构型不同，即染色体的聚缩、折叠程度更高，反映了它们处于细胞周期中不同的功能阶段。真核细胞的 DNA 在形成染色质或染色体的过程中往往要压缩上百万倍。这个包装，压缩的过程是严格有序，分级进行的。

染色体的基本结构单位是核小体(nucleosome)。(图 1-7)。每个核小体单位包括 200 碱基对左右的 DNA 和一个组蛋白八聚体以及一分子的组蛋白 $H_1$，组蛋白八聚体构成核小体的核心结构，DNA 分子以左手方向盘绕八聚体两圈，一分子的组蛋白 $H_1$ 与 DNA 结合，锁住核小体 DNA 的进出口，从而稳定了核小体的结构。两相邻核小体之间以连接 DNA 相连，长度为 2～80 碱基对不等。由 DNA 包装成的核小体是染色体包装的一级结构。直径为 10 nm 的核小体"念珠"结构再进一步螺旋盘绕成每圈 6 个核小体，外径 30 nm，内径 10 nm 的螺线管。30 nm 螺线管是染色体包装的二级结构。

染色体的进一步包装可能通过 30 nm 螺线管在非组蛋白的支架上形成袢环结构，在此结构基础上再形成螺旋管进一步压缩，最后形成染色体。

**3. 核仁**

核仁(nucleolus)是真核细胞间期核中最明显的结构,在光学显微镜下为一个或数个匀质的小球。核仁的大小、形状和数目都随细胞类型和代谢的状态而发生改变。核仁又是一个高度动态的结构,其随细胞周期的进行表现出的周期性的消失和重建,称为核仁周期(nucleolar cycle)。

核仁是细胞核内的生产核糖体的机器,所有真核生物的核糖体 RNA (rRNA)的转录都是在核仁中完成的,其过程是由 rDNA 转录成 rRNA,rRNA 再与来自细胞质的蛋白质结合,进而加工、改造成核糖体的前体,然后输出到细胞质。

## (二)细胞核与细胞质间的物质运输

细胞中 DNA 的复制和 RNA 的转录主要在细胞核中进行而蛋白质的合成则主要在细胞核外进行,它们的合成原料和产物都必须在细胞核和细胞质间进行运输,此外对细胞基因表达的调控信息通常也要由细胞质传递到细胞核内,因而细胞核和细胞质之间频繁的信息和物质交流是至关重要的。这种交流是一个跨核膜的过程,常常并非简单的扩散,而是受到严格的控制。

核孔复合体是一亲水通道,它允许离子和水溶性小分子穿梭于核质之间,进行自由扩散。分子质量越大的分子通过核孔复合体的速率就越慢,分子质量大于 60 kDa 的球蛋白几乎不能进入核内。除了核孔复合体的扩散之外,小分子物质的运输还可能通过双层核膜的扩散作用进行运输。

大分子物质一般通过核孔复合体进行运输,包括核输入和核输出双向途径。大分子物质的运输通常具有选择性,是消耗 ATP 的需能的主动运输过程,往往涉及信号识别和载体介导。核孔复合体的有效直径可随运输颗粒的大小进行调节,例如像核糖体亚单位那样大的核糖体蛋白颗粒也可以通过核孔复合体从核内运到细胞质中;细胞核中 DNA 复制、转录、染色体构建和核糖体前体组装等所需要的因子如 DNA 聚合酶、RNA 聚合酶、组蛋白、核糖体蛋白等也可以通过核孔复合体从细胞质运输到核内。

蛋白质分子的核质运输常常涉及信号的识别。通常把在细胞质内合成,然后输入到核内发挥功能作用的一类蛋白称为亲核蛋白质(karyophilic protein)。亲核蛋白一般都含有特殊的由 4～8 个氨基酸残基组成的信号序列,这个信号序列可以指导蛋白质通过核孔复合体向核内输入并定位于细胞核,因此将这一特殊的氨基酸序列命名为核定位信号(nuclear localization signal,NLS)。NLS 可定位在亲核蛋白的不同部位,在指导亲核蛋白完成核输入后并不被切除,这和前述的信号肽是不同的。

核孔复合体的主动运输是一种蛋白质介导的过程。在细胞中有一类与 NLS 特异性结合的蛋白(NLS-binding protein,NBP),这种蛋白质可能在被转运的亲核蛋白与核孔复合体之间起衔接分子的作用。NBP 在细胞质内与 NLS 结合,然后把亲核蛋白质运送到核孔复合体进行转运;或者与亲核蛋白一起穿过核孔,在核内解离,然后再经核孔返回细胞质重复使用。

大分子物质由细胞核向细胞质运输同样有信号识别的过程。真核细胞的 RNA 一般要经过转录后加工,修饰成为成熟的 RNA 分子后才能被转运出细胞核。在生理状态下,当分子的 5′端具有 $m^7$GpppG帽子时,即被定位于细胞质;而没有帽子的 RNA 分子却滞留在核中,说明 5′端 $m^7$GpppG 帽子结构对于 mRNA 的核输出是关键信号。成熟的 rRNA 分子总是在核仁内装配成核糖体亚单位,以核糖核蛋白(ribonucleoprotein,RNP)颗粒的形式转运到细胞质中,rRNA 如不结合核糖核蛋白则不能输出核外。推测它们有可能是靠一种受体介导的主动运输系统通过核孔复合体被特异地运出细胞核。

# 第三节　细胞骨架

细胞骨架(cytoskeleton)是真核细胞中由蛋白质聚合而成的三维的纤维状网架体系。细胞骨架包括微丝、微管和中间纤维。细胞骨架在细胞分裂、细胞生长、细胞物质运输、细胞壁合成等等许多生命活动中都具有非常重要的作用。

## 一、微　　丝

### (一) 微丝的结构

微丝(microfilament)是由单体肌动蛋白(actin)聚合而成的、直径为 7nm 的丝状结构,因此也将微丝称为丝状肌动蛋白(filamental actin, F-actin),而将组成微丝的单体肌动蛋白称为球体肌动蛋白(globular actin, G-actin)。肌动蛋白是在进化中极为保守的蛋白质,不同真核生物细胞的肌动蛋白间具有很高的同源性。在植物细胞中肌动蛋白大约占总蛋白量的 5%～10%。植物中通常有多个肌动蛋白的基因,在有些植物中肌动蛋白基因的数量可以高达数十个,这些基因的表达常有一定的组织或时期特异性。

单体肌动蛋白为单个多肽链的球状蛋白质,分子质量约 42kDa。在活体细胞中通常存在一些游离的单体肌动蛋白,形成单体肌动蛋白的库(pool)。细胞中微丝是一个动态的结构,即微丝总在不断地聚合和解聚,这样,微丝中的肌动蛋白就会因解聚进入肌动蛋白库,而肌动蛋白库中的单体肌动蛋白又会因聚合而进入微丝,因而形成微丝肌动蛋白的周转(turnover)。在一定条件下,单体肌动蛋白只有在高于一定浓度时才能聚合成微丝,这个浓度称为肌动蛋白聚合的临界浓度(critical concentration)。细胞可以通过控制游离的肌动蛋白的浓度,或肌动蛋白库的大小来调节微丝聚合,因此肌动蛋白库对于微丝的聚合有重要的调控作用。

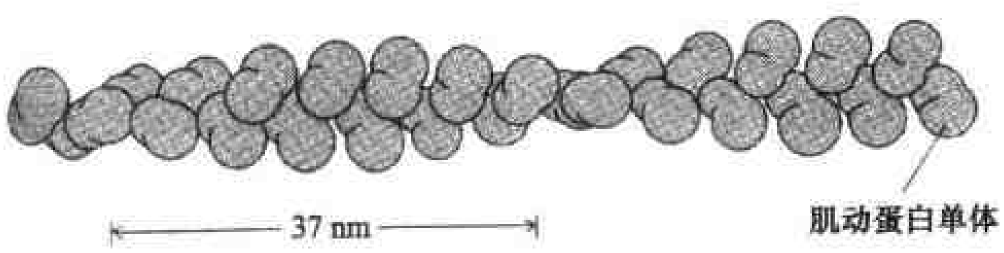



图 1-8　微丝结构示意图 (Alberts et al. 1994)

关于肌动蛋白如何组织成为微丝有两种说法:其一认为微丝是由两股肌动蛋白丝相互螺旋盘绕而形成;其二则认为微丝是由单根肌动蛋白丝组成,肌动蛋白沿微丝的轴螺旋排列,每 37 nm 一周,形成微丝结构(图 1-8)。肌动蛋白聚合成微丝需要 ATP 和镁离子。微丝中肌动蛋白之间由非共价键结合。由于肌动蛋白自身的结构上的非对称性,微丝也具有极性。当微丝发生聚合时,单体肌动蛋白通常从微丝的两端加入微丝从而使微丝延长,但两端的聚合速度有所不同,通常把聚合较快的一端称为(+)端,而把聚合较慢的一端称为(－)端。如果用肌球蛋白的水解片段去结合微丝,在电镜下可以看到"箭头"状的微丝结构,箭头端(pointed end)相当于负端而倒刺端(barbed end)则相当于正端。

微丝在细胞中进一步形成有规律的排列或分布,这种分布随细胞的生长和生理状态以及外界信号的传递而发生变化。微丝的这种变化是受到细胞内多种因子的调控的。在细胞中有许多可以和微丝或单体肌动蛋白结合的蛋白称为肌动蛋白结合蛋白(actin binding protein, ABP)。ABP 对微丝骨架有重要的调节功能,目前在动物细胞中所发现的 ABP 已逾百种。在植物细胞中也已证实了某些 ABP 对微丝骨架的调节作用。例如前纤维蛋白(profilin)是一种结合单体肌动蛋白的 ABP,它可以通过结合游离的单体肌动蛋白[称为隔离(sequester)],调节细胞中肌动蛋白的浓度从而控制微丝的聚合和聚集。

### （二）微丝和细胞运动

在植物细胞中广泛存在胞质流动(cytoplasmic streaming)的现象，细胞质在细胞中以各种不同的方式进行集体的流动。丽藻(*Nitella*)和轮藻(*Chara*)的节间细胞、紫露草(*Tradescantia*)的雄蕊毛细胞以及花粉管都是研究胞质流动的经典材料。胞质流动可能在植物细胞的物质运输方面有重要作用。微丝系统是形成胞质流动的基础。在藻类节间细胞中，细胞质可以分为外部静止的外质和内部流动的内质两部分。在外质中微丝聚集成束非常规律地沿细胞纵向依一定极性排列，在内质中则存在依赖于微丝的马达蛋白——肌球蛋白。在内质-外质界面上肌球蛋白沿微丝的定向运动是产生胞质流动的动力来源。而肌球蛋白-微丝滑动所产生的动力又如何产生胞质流动呢？目前认为，可能是由于肌球蛋白与内质中某种三维网络连结，当肌球蛋白沿微丝滑动时即拉动三维网络并带动细胞质产生流动。

除胞质流动外，一些特殊的植物运动也可能和微丝有关。一些攀援植物的卷须在接触物体后会发生快速的缠绕运动，用微丝的专一性抑制剂破坏微丝系统后卷须的运动被明显地抑制，说明微丝系统可能参与了卷须的运动。植物气孔的运动是由于气孔保卫细胞的水分进出引起的细胞形变而造成的。但是微丝结构的破坏会阻断保卫细胞的形变过程，因此植物气孔运动可能需要微丝的参与。

### （三）微丝和细胞生长

植物细胞的伸长生长有两种基本的方式：扩散性生长(diffuse growth)和顶端生长(tip growth)。在扩散性生长时，细胞沿伸长轴方向整体进行扩张，细胞各个部位的伸长速率是基本一致的。顶端生长则不同，对于顶端生长的细胞其伸长部位仅局限于生长端的一小部分，而细胞的其余部位是不进行扩张伸长的。例如花粉管和根毛的生长都是较为典型的顶端生长。当花粉管生长时其顶端进行扩张，需要新的细胞壁物质加入，细胞质中所合成的细胞壁物质是由在高尔基体处形成的囊泡经过微丝系统运送到细胞顶端的。微丝系统对于顶端生长很重要，破坏微丝系统即会抑制细胞的顶端生长。

对于许多进行顶端生长的细胞，例如植物卵细胞，其生长的第一步是确定其极性。褐藻(*Fucus*)的受精卵在其第一次分裂前即确定极性，以后形成假根/假叶发育轴。极性的确定过程包括光诱导，细胞钙梯度的建立，之后微丝骨架会发生重新排列，周质微丝被分布到将来形成假根的那半边细胞。破坏微丝就会阻断极性的确定过程。花粉的萌发过程中，同样也有微丝的重新排列。微丝在花粉萌发前变为浓密的平行束状循环结构，并集中于花粉萌发沟处，当花粉管萌发之后，微丝束则沿花粉管生长方向延伸，在花粉管内呈束状排列。破坏微丝也同样会抑制花粉的萌发。

## 二、微　　管

### （一）微管的形态结构

微管(microtubule)是存在于所有真核细胞中的管状蛋白多聚体结构，直径约 25nm，一般由 13 条原丝螺旋排列而成，每一条原丝由微管蛋白(tubulin)聚合组成。微管的长度一般为几个微米(图 1-9)。

组成微管的基本单位是由两种类型的微管蛋白，α-微管蛋白和 β-微管蛋白组成的微管蛋白异二聚体。α-微管蛋白和 β-微管蛋白的分子质量都在55 000Da 左右，但二者的氨基酸组成和多肽链的顺序是不相同的。另外还有一类 γ-微管蛋白，这类微管蛋白在细胞中的含量较少，并不是微管的基本成分，但这类蛋白在微管的形成和组织中起重要的作用。微管蛋白是生物进化中最为保守的蛋白质之一，例如哺乳动物的微管蛋白与藻类、原生动物及黏菌的微管蛋白具有 82%～96%的氨基酸顺序同源

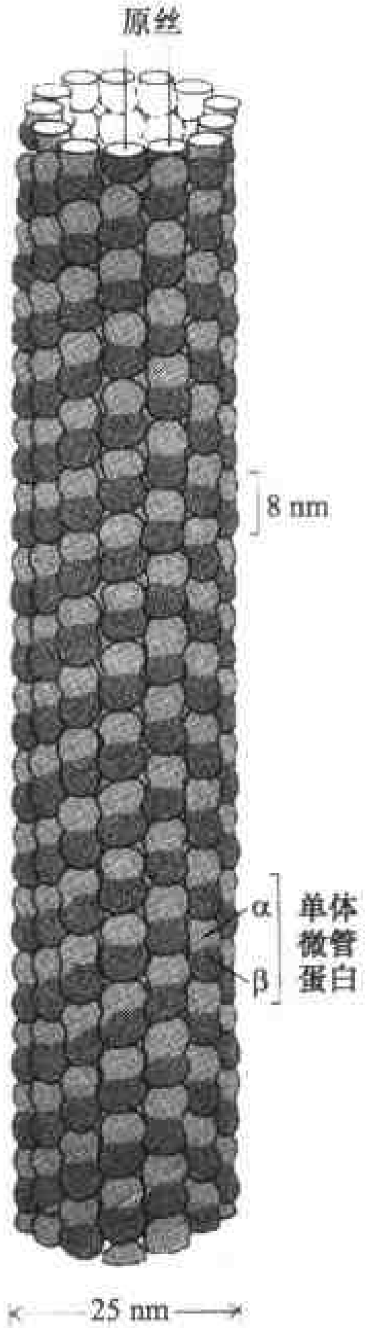


图 1-9　微管结构示意图
(Alberts et al. 1994)

性;种子植物与脊椎动物的微管蛋白至少具有 79%的氨基酸顺序同源性。

## (二) 微管的动态特性

### 1. 微管的聚合和解聚

与微丝一样,细胞中微管也始终处于不断地聚合与解聚的过程当中。微管的这种不断聚合和解聚的状态称为微管的动态(dynamics)。微管的动态特征是微管蛋白内在的基本特性。这种特性是微管实现其功能的最重要的性质之一。在细胞质中也存在一定浓度的微管蛋白,称为微管蛋白库(pool),一些微管蛋白从微管上解聚下来,而一些微管蛋白库中的微管蛋白又通过聚合进入微管,因此形成微管的周转(turnover)。微管的周转速率在不同细胞时相是不同的,一般来说,分裂细胞具有比间期细胞更快的微管周转速率,而间期植物细胞比间期动物细胞有更快的微管周转速率。例如紫露草雄蕊毛间期细胞微管的周转半期(half-time of turnover)为 67 秒,比动物间期细胞微管的周转快约 4 倍。

微管的聚合只有当溶液中微管蛋白的浓度高于一定的阈值时才能发生,这个阈值也称为微管聚合的临界浓度。微管蛋白的聚合可分为两个步骤,即成核(nucleation)和延长(elongation)。成核过程通常是微管聚合的限制性步骤,比较缓慢。在细胞中,微管的成核通常是在微管组织中心(microtubule orgnizing center,MTOC)完成的。在动物细胞中,中心体(centrosome)是具微管组织功能的细胞器,但是在植物细胞中缺少明确的具微管组织功能的细胞器,因此植物细胞中微管的组织仍然是一个尚未确定的问题。成核之后是快速的延长过程。微管蛋白加入微管通常是在微管的两端进行的。在某些情况下,也会发生微管壁上微管蛋白与溶液中微管蛋白的交换。由于组成微管的基本单位是微管蛋白异二聚体,而且微管蛋白也是以二聚体的形式加入微管的,因此微管具有极性。微管两端聚合的速度不同,聚合速率较快的一端为(+)极,另一端聚合速率较低,称为(−)极。微管的正、负端都始终处于生长或缩短的过程中,或是生长或是缩短。在微管聚合生长相和解聚缩短相之间存在相的转变。微管的这种动态模型被称之为微管的动态非稳定性(instability)。

### 2. 微管动态特性的调控

微管蛋白上有 GTP 的结合位点,微管蛋白的聚合是以 GTP-微管蛋白的形式进行的,GTP 在微管蛋白聚合进入微管后发生水解,变为不可交换的 GDP 及 Pi。由于 GTP 的水解在微管蛋白聚合之后才发生,因此在微管两端的若干微管蛋白为 GTP-微管蛋白,即所谓的 GTP 帽(GTP cap)。当微管两端具有 GTP-微管蛋白时,微管被稳定而聚合生长。当微管失去 GTP-帽时,微管两端的 GDP-微管蛋白解聚而离开微管。

微管蛋白在翻译后可以进行修饰,若干微管蛋白的修饰可能参与微管动态的调节,例如 α-微管蛋白的乙酰化,微管蛋白羧基端的酪氨酸化/去酪氨酸化等等。由修饰微管蛋白所聚合而成的微管通常较为稳定,微管的周转速率常较低。

另外还有一类与微管密切相关的蛋白——微管结合蛋白(microtubule associated protein,MAP)。微管结合蛋白可以和微管结合,与微管共同聚合、解聚,并参与对微管结构和功能的调节。因此从广义的角度来讲,微管结合蛋白也是微管的重要组成部分。对细胞微管结合蛋白的研究结果表明,微管结合蛋白对微管动态有重要的调控作用。微管结合蛋白具有促进微管聚合、稳定微管结构及在微管

间形成跨桥结构等等作用。目前在植物细胞中已经找到一些微管结合蛋白，这些微管结合蛋白在稳定微管结构以及对周质微管动态和微管列阵的组织方面都有重要的功能。

## （三）微管的列阵

微管在植物细胞中按一定的规律排列，组成所谓的微管列阵(array)。在细胞周期中，不同时期的植物细胞具有不同的微管列阵，而各个微管列阵都具有相应于所在时期的独特的功能。一般来说，植物微管列阵包括：①间期周质微管列阵(cortical array)；②早前期微管带(preprophase band，PPB)；③纺锤体微管列阵(spindle array)；④成膜体微管列阵(phragmoplast array)。这些微管列阵随细胞周期依次转化，形成植物细胞的微管周期变化(图 1-10)。各时期的微管列阵都是高度动态的。

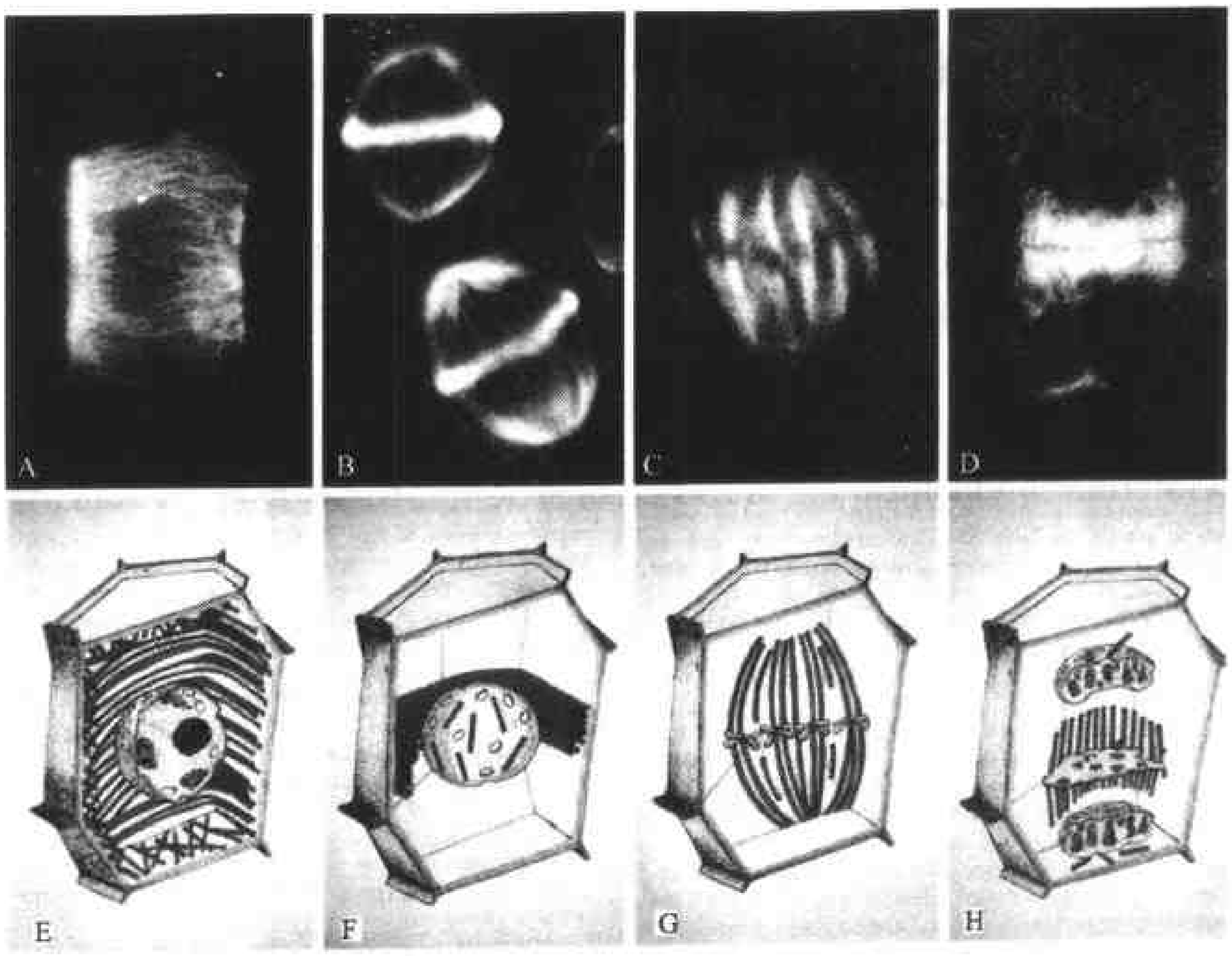



图 1-10 植物细胞的微管列阵及其周期变化

A、E：间期周质微管；B、F：早前期微管带；C、G：纺锤体微管；D、H：成膜体微管

**1. 细胞间期周质列阵**

在间期细胞中，微管大致相互平行地排列在细胞膜下，形成独特的周质微管列阵。周质微管列阵通过控制细胞壁微纤丝的沉积方向，从而进一步控制细胞的生长。周质微管列阵的排列方向是和植物细胞的生长密切相关的。一般来说，当细胞快速伸长时周质微管的排列方向与细胞伸长轴方向垂直；当细胞伸长速率降低或停止时周质微管排列方向与细胞伸长方向呈斜向或纵向排列。当植物形成愈伤，细胞进入分裂之前，周质微管首先改变排列的方向，微管的排列方向决定了细胞极性重建的方向。植物激素可以改变周质微管的排列方向，例如生长素和赤霉素可以使斜向或纵向的微管排列转变为垂直排列，而乙烯和脱落酸则使微管列阵由垂直排列转变为斜向或纵向排列。许多外界环境因素，如光照、压力、电场、重力等都可以对周质微管的排列方向产生影响。

**2. 早前期微管带**

在细胞完成 DNA 复制，进入早前期后，周质微管将逐步地紧密排列在一起，形成围绕细胞周质的、"腰带"状的早前期微管列阵。在早前期带形成过程中，细胞核膜表面有微管束发出连结到早前期带上。早前期微管带精确地预示着紧接着的经有丝分裂形成的新细胞壁的位置。在细胞膜破裂后，

早前期带逐渐消失。早前期带预示新细胞壁位置的性质表明，在有丝分裂之前，细胞的分裂面在早前期带形成期间已经决定。早前期带有可能参与细胞分裂面的决定过程。

**3. 纺锤体微管列阵**

在核膜破裂后，微管逐步聚集成束并与染色体着丝粒结合形成纺锤体微管列阵。在纺锤体微管列阵中，着丝微管及非着丝微管几乎都具有相同的极性排列，即纺锤体两极的微管端点为负端而着丝点的微管端点为正端。染色体在分裂后期分离并向纺锤体两极运动。产生染色体运动的机制仍不能完全确定。微管的聚合、解聚可能是染色体运动的能量来源；着丝粒中微管的解聚或是基于微管的马达蛋白也可能产生染色体运动的推动力。无论染色体运动的最终机制是什么，微管都是产生染色体向极运动的最基本结构。

**4. 成膜体微管列阵**

当子染色体基本完成分离后，成膜体微管列阵开始形成。成膜体微管首先在两子核之间近于纺锤体赤道面的两侧形成两个列阵，各列阵中的微管之间完全平行，微管向核的一端为负端，向赤道面的一端为正端，因此两微管列阵的极性是相反的。之后，成膜体微管由中心向外扩张，直到抵达细胞膜。这时中心部位的微管逐渐消失，因而形成两个平行的指向相反的微管环形列阵。成膜体微管列阵与合成新细胞壁的物质的运输有关。

## 三、中间纤维

中间纤维（intermediatefilament）是第三类细胞骨架蛋白结构，直径为10nm。与微丝和微管不

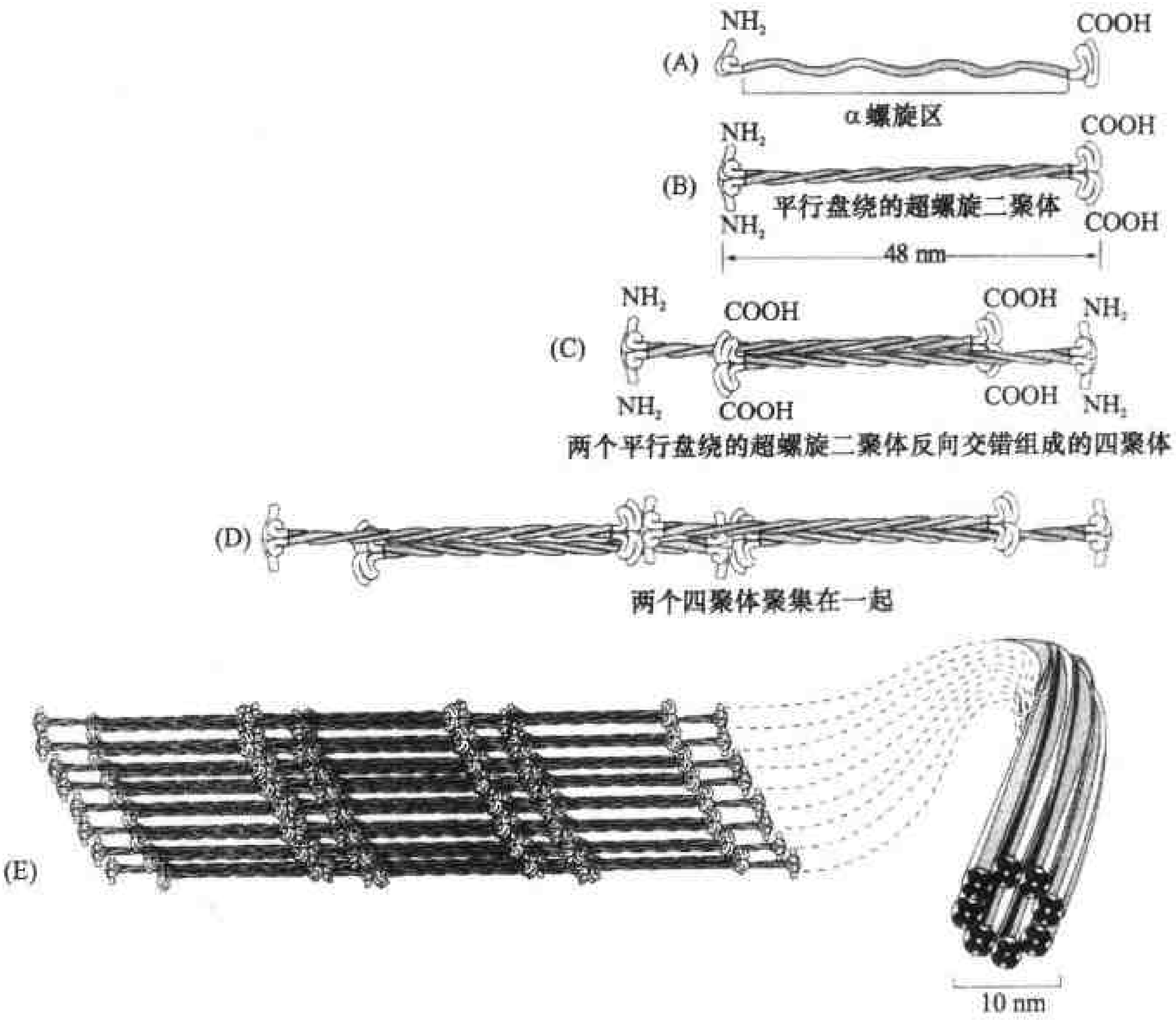



图 1-11 中间纤维组装过程模式图（Alberts 1994）

（A）单体中间纤维多肽链，中间是螺旋区；（B）由两条中间纤维形成平行的超螺旋二聚体；（C）两个二聚体以半交叠方式构成四聚体；（D）四聚体连接起来形成原纤维；（E）8 根原纤维构成 10nm 的中间纤维。

同，中间纤维是由不同的中间纤维蛋白聚合而成的，不同种类的中间纤维有较强的组织特异性，其大小和生化组成有很大变化。在植物细胞中也有中间纤维存在。利用动物细胞的中间纤维的抗体，已经在许多种类的植物中发现类中间纤维蛋白，并且观察到类中间纤维的网络结构。在胡萝卜悬浮细胞和豌豆根尖细胞中观察到 10nm 纤维网络，证明其为酸性角蛋白和碱性角蛋白所组成，并已成功地在体外进行了重装配。

虽然中间纤维蛋白的蛋白组成有很大差异，但其亚单位仍然具有结构上的共性。组成中间纤维的蛋白多肽的中部有大约 310 个氨基酸的序列是高度保守的，通过这一区域，两条多肽可以形成螺旋的双股超螺旋二聚体(coiled-coil dimer)。两个二聚体反向平行以半分子长度交错排列构成四聚体，四聚体首尾相连形成原纤维，八根原纤维构成圆柱状的 10nm 纤维(图 1-11)。由于中间纤维在组装过程中出现了反向平行的结构，使得中间纤维与微管和微丝不同，它的两端是对称的，因而完整的中间纤维在结构上是非极性的。

在细胞中很少有单体的中间纤维蛋白存在，它们主要以中间纤维结构存在，因此细胞中不存在中间纤维蛋白库。一般认为中间纤维一般也不发生聚合和解聚的动态周转。但是在细胞分裂时，核纤层蛋白在细胞核解体和重新形成过程中会发生聚合和解聚。

中间纤维的具体功能现在并不十分明了，它可能作为一种真正的骨架在维持细胞的形状和结构中起作用。

## 四、细胞骨架的马达蛋白

马达蛋白(motor protein)是依赖于细胞骨架蛋白的、通过水解 ATP 或 GTP 将化学能转变为机械能的一类蛋白质。马达蛋白具有三个基本的特性：首先，具备细胞骨架结合蛋白的性质，这种结合特性是依赖于核苷酸的；第二，具备 ATP 或 GTP 酶的性质，可以水解 ATP 或 GTP，它们的酶活性只有在结合相应细胞骨架时才能被激活；第三，可以将水解的化学能转变为运动的机械能。马达蛋白按照其所结合的细胞骨架蛋白可以分为依赖微丝的马达蛋白(microfilament dependent motor protein)和依赖于微管的马达蛋白(micortubule dependent motor protein)两大类。肌球蛋白是一大类依赖微丝的马达蛋白，包括多种亚型。肌球蛋白通过水解 ATP 沿微丝滑动。依赖于微管的马达蛋白有三类：动蛋白(kinesin)、力蛋白(dynein)和动力蛋白(dynamin)。

马达蛋白在微丝或微管上的移动通常有一定的方向性，即某一类马达蛋白通常仅向微丝或微管的正极或仅向负极移动，从而可以分别执行细胞内不同的运动功能。大多数种类的肌球蛋白是正向运动的马达蛋白，但近来亦发现负向运动的肌球蛋白。动蛋白可以通过水解 ATP 向微管的正极运动，力蛋白则可以拉动囊泡向微管的负极运动，而动力蛋白则通过水解 GTP 向微管的负极运动。在动蛋白家族中也有一些类似动蛋白的负向马达蛋白。

细胞中的许多运动功能都和马达蛋白有关。最经典的例子是肌肉细胞的收缩功能，肌球蛋白丝和微丝间的相互滑动是产生肌肉收缩的基本机制。植物细胞中的胞质流动的动力也是来源于肌球蛋白和微丝的相互滑动。此外，染色体的运动也可能和微管马达蛋白有关。许多细胞内的物质运输和细胞器的运动都和马达蛋白有关。

# 第四节　细　胞　壁

植物细胞的质膜外有一层并不很厚但却坚硬的壁，称为细胞壁，它是植物细胞区别于动物细胞的主要特征之一。不仅高等植物具有细胞壁，多数原核生物的细胞也具有细胞壁(但是它们的细胞壁的化学成分是不同的)，真菌和藻类也具有细胞壁。植物的细胞壁是植物细胞所分泌的多种多聚糖以及

其他多聚物通过共价和非共价键所组成的有序的网状结构。植物细胞壁中也存在蛋白质、酶和酚类多聚物等等，以调节细胞壁的物理和化学的特性。植物细胞壁除了其最基本的功能——调节细胞体积和决定细胞形状外，还具有其他如控制植物细胞的生长、细胞膨压的形成、细胞运动、提供机械支持、信号传递等等重要的功能。

植物细胞壁不仅有重要的生理功能，它在人类的生活中同样具有重要的用途。例如，纸张、纺织品、纤维、木炭、木材以及其他许多工业产品的原料即出于植物细胞壁；此外从植物细胞壁提取的多糖可用于生产塑料、胶卷、黏合剂和凝胶等等。作为自然界中有机碳的最丰富的来源，植物细胞壁在整个生态系统的碳循环中具有重要的作用。土壤中组成腐殖质的有机物来源于植物细胞壁。煤矿也来源于植物。此外，纤维素对人类的健康也有重要的作用。

## 一、细胞壁的结构和成分

### （一）细胞壁的组成

细胞壁是由多种大分子聚合物组成的。

**1. 细胞壁中的多糖物质**

（1）纤维素　纤维素(cellulose)是地球上数量最多的有机大分子物质，是构成细胞壁的基础物质，约占初生细胞壁物质的 20%～30%。纤维素分子是由 β(1→4)连接的 D-葡聚糖组成的高分子聚合物，并通过分子内氢键使其形成一种类螺旋状的结构。纤维素分子之间也有氢键使彼此形成平行排列的结构，约 60～70 个纤维素分子成为一束，称为纤维素微纤丝。纤维素微纤丝的长度是不确定的，不同来源的纤维素微纤丝具有不同的宽度和组织程度。例如在电子显微镜下陆生植物的纤维素微纤丝的宽度大约在 4～10nm 之间，而藻类植物的纤维素微纤丝的宽度可达 30nm。这种宽度的变化反应组成一根纤维素微纤丝的纤维素分子链数目的多少。

目前对纤维素微纤丝的结构还不完全清楚，比较流行的结构模型认为，沿纤维素微纤丝分布着结晶区(crystalline domain)，结晶区之间由非组织区(amorphous domain)连接。在结晶区纤维素分子具有高度的组织，相互间由非共价键连接，如氢键、疏水作用等。纤维素微纤丝中的单根纤维素分子链由 2000～25 000个或更多的葡萄糖基组成，其长约可达 1～5μm，足以穿过多个结晶区和非组织区。当用纤维素酶分解纤维素微纤丝时，非组织区的纤维素分子首先发生分解释放出许多小结晶，这些小结晶可能就是纤维素微纤丝中的结晶区。

纤维素分子链组成纤维素微纤丝使其具有许多特异的性能，纤维素具有可以和钢铁相比的张力强度、水不溶性、不易被化学物质或酶所破坏等等，因此纤维素是非常适合的构成细胞壁的材料。

纤维素是在细胞质膜的蛋白复合体——终端复合体(particle rosette，或 terminal complex)上合成的。这个蛋白复合体包含多个纤维素合成酶(cellulose synthase)单元。纤维素合成酶将葡萄糖供体上的葡萄糖基加到葡萄糖链上催化合成 β(1→4)连接的 D-葡聚糖链。用于合成的葡萄糖供体是尿苷二磷酸葡萄糖(uridine diphòsphate glucose, UDPG 或 UDP-葡萄糖)。UDP-葡萄糖可能来源于蔗糖。蔗糖合成酶将蔗糖中的葡萄糖转为 UDP-葡萄糖，然后加入到纤维素链上(图 1-12)。纤维素合成酶中的糖基转移酶有两个催化位点，将核苷酸供体上的葡萄糖基转移到延长的纤维素链上。由于糖基转移酶有两个催化位点，所以纤维素链延伸时每次加入两个葡萄糖基，因此纤维素总是以二聚糖 β(1→4) D-葡聚糖为重复单位。

细胞壁中纤维素的合成过程不仅有纤维素葡聚糖链的合成而且还有纤维素微纤丝的组织。目前还不清楚纤维素微纤丝是如何组织的。但是纤维素微纤丝在细胞壁中的排列方向可能是由质膜下的微管来控制的。

纤维素微纤丝合成后被释放到细胞壁的内层。在细胞壁的内层有许多其他的多糖物质，如半纤维素，这些多糖对于纤维素微纤丝结构可能有重要的影响。细胞壁基质中的多糖物质是在高尔基体中合成的。合成后以外排(exocytosis)小泡运输到质膜，然后排出细胞进入细胞壁。

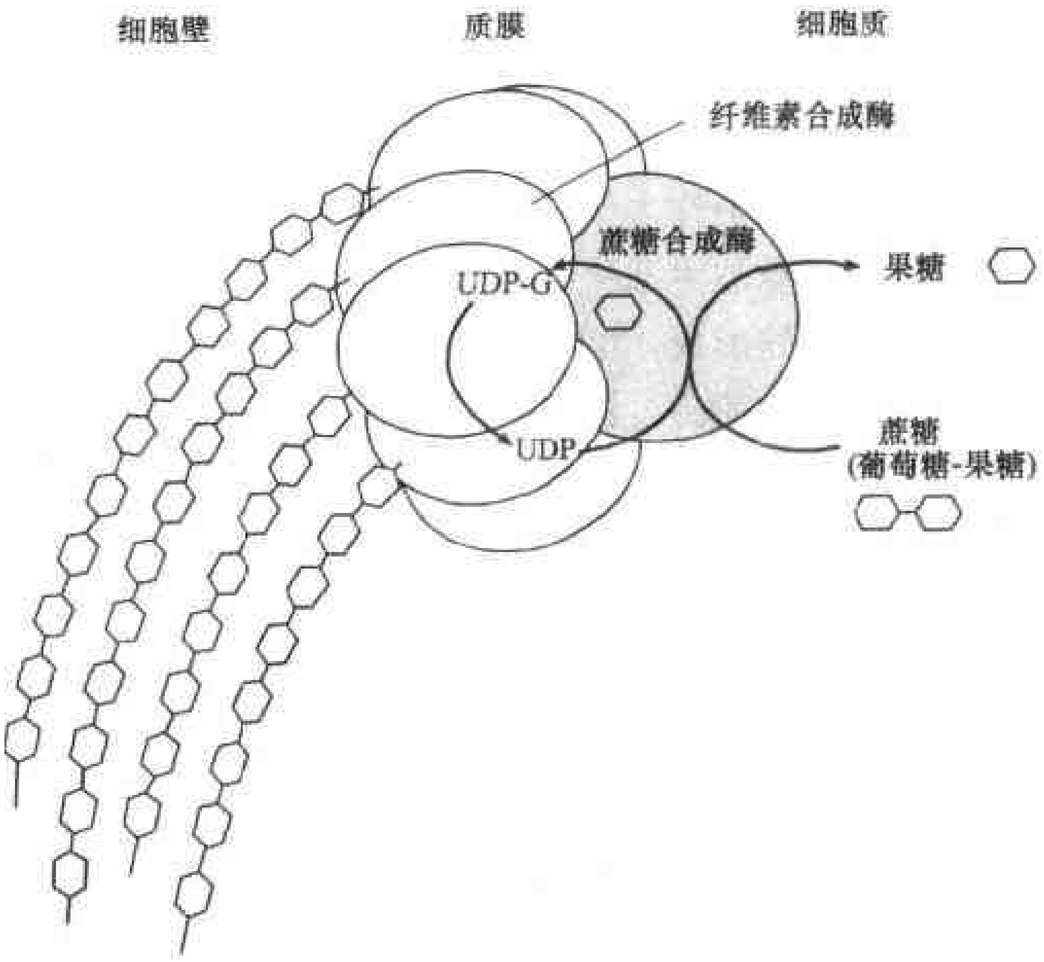



图 1-12 纤维素在质膜纤维素合成酶复合体上进行合成的可能分子模型（Taiz & Zeiger 1998）

(2) 半纤维素　半纤维素(hemicellulose)是由不同种类的糖聚合而成的异质多聚糖。在植物细胞壁中有不同种类的半纤维素，来自不同植物种类和不同植物组织的细胞壁中也有不同的半纤维素组成。组成半纤维素的组分包括木聚糖、阿拉伯木聚糖、半乳甘露聚糖、木葡聚糖等。半纤维素中木葡聚糖分子的基本重复排列顺序类似纤维素分子。半纤维素并非纤维素的衍生物，此名称很容易造成误解，最近也有称之为纤维素连接多聚糖(cellulose-linking glycan)，更能体现其功能。

在胚芽鞘初生壁中，最丰富的半纤维素是木葡聚糖(xyloglucan)，约占干重的 20%～25%。木葡聚糖如同纤维素一样具有 β(1→4) D-葡聚糖的骨架，但是木葡聚糖具有含木糖(xylose)、半乳糖(galactose)的侧链，在侧链末端常是墨角藻糖(fucose)。木葡聚糖的侧链阻止了其葡聚糖骨架相互间结合形成微纤丝，同时可以维持其骨架与纤维素微纤丝结合部分的平面构象，从而帮助纤维素微纤丝组成网状结构。而在禾本科植物细胞壁中主要的半纤维素是混合键 β-葡聚糖[mixed-linkage-(1-3), (1-4)-glucans, MLG]。

(3) 果胶质　果胶质(pectin)是中胶层的主要成分，是细胞壁中可溶性最强的多糖。果胶质也是由一大类异质的多糖构成，含有半乳糖(galactose)、阿拉伯糖(arabinose)、鼠李糖(rhamnose)和半乳糖醛酸(galacturonic acid)，其化学结构和组成在不同植物中和不同组织中有所不同。

果糖类分子的主要特征是由 α(1→4)连接的 D-半乳糖醛酸组成的线状链。植物细胞壁存在的果胶主要有两大类。第一类是半乳糖醛酸聚糖(galacturonan)和鼠李半乳醛酸聚糖(rhamnogalacturonan, RG)，第二类为阿拉伯半乳聚糖(arabinogalactan)。

半乳糖醛酸聚合即形成半乳糖醛酸聚糖，但细胞壁中纯粹的半乳糖醛酸聚糖并不多，在半乳糖醛酸链中插入一些吡喃型鼠李糖便是鼠李半乳醛酸聚糖。鼠李糖残基有规律地出现，使鼠李半乳醛酸聚糖形成具有一定重复顺序的亚单位结构。根据这些结构这类果胶可以分为鼠李半乳醛酸聚糖 I 和鼠李半乳醛酸聚糖 II。例如鼠李半乳醛酸聚糖 I 的主链为鼠李糖和半乳醛酸二聚糖的重复系列，并有许多侧链，侧链由阿拉伯聚糖、半乳聚糖、阿拉伯半乳聚糖等组成。鼠李半乳醛酸聚糖 II 的结构相当复杂，它含有至少 10 种糖以及复杂的连接方式。这种复杂的组成和结构也许说明其不仅是结构物质，并且可能作为细胞壁中的信号分子。

另一类细胞壁果胶是阿拉伯半乳聚糖(arabinogalactan)。植物中存在两类不同的阿拉伯半乳聚糖。第一类为单独存在的中性多糖或者是与 RG 区相连的亚单位，它们是 β(1→4)连接的半乳糖上带 L-阿拉伯吡喃糖残基侧链的多聚物。第二类是高度分支的多糖，由 β-D-吡喃半乳糖残基以 β(1→3)和

β(1→6)键相互连接而成。

果胶分子可以形成亲水的凝胶，这是由于果胶上的羧基通过钙离子相互间形成钙桥（calcium bridge）将果胶组成网状结构而形成的。除了钙离子外，果胶分子还可以通过其他共价键，如酯键相互连接。在细胞壁中许多果胶被修饰以改变其构象以及其与细胞壁的连接。在高尔基体中进行合成时许多酸性基团会被甲基化和乙酰化或与其他基团酯化。这样的酯化反应可以防止果胶间形成钙桥，因而阻止凝胶的形成。酯化的果胶被分泌到细胞壁后，细胞壁中的果胶酯酶可以去掉酯类基团，增强果胶形成凝胶的能力。同时去掉酯类基团后增加了带电荷的羧基，因此可以影响细胞壁中离子的浓度并影响细胞壁中酶的活性。

**2. 细胞壁蛋白**

细胞壁中存在许多种类的蛋白质。

(1) *参与细胞壁结构的蛋白质*　蛋白质也是组成细胞壁结构的组分之一。细胞壁的结构蛋白有若干种。这些蛋白常以其主要氨基酸组成来分类，例如富羟脯氨酸糖蛋白（hydroxyproline-rich glycoprotein，HRGP）、富甘氨酸蛋白（glycine-rich protein，GRP）、富脯氨酸蛋白（proline-rich protein，PRP）等等。许多结构蛋白具有高度重复的氨基酸序列并高度糖基化。结构蛋白刚从细胞分泌出来时是可溶的，但是随细胞壁的逐渐成熟，这些蛋白也变得难以溶解。在不同细胞类型、不同成熟程度组织的细胞中，结构蛋白在细胞壁中的含量会发生很大的变化。当受到外界的刺激，例如伤害、病理破坏或者引起细胞抗逆反应的处理都会诱导结构蛋白基因的表达，从而改变结构蛋白的含量。细胞壁结构蛋白的分布有细胞类型和组织的特异性，例如 HRGP 常位于形成层、韧皮部薄壁细胞和厚壁组织细胞中；GRP 和 PRP 则常位于木质部导管和纤维等非常特化的细胞壁中。

富羟脯氨酸糖蛋白是一大的蛋白家族，伸展蛋白（extensin）即其中一个亚族。伸展蛋白具有丝氨酸-羟脯氨酸（Ser-Hyp-Hyp-Hyp-Hyp）高度重复的基本单元。伸展蛋白曾被认为与细胞的伸长有关，但后来被证明并非如此。目前认为伸展蛋白通过肽键交联构成独立的网状结构，增加了细胞壁的强度和刚性。富羟脯氨酸糖蛋白的基因表达可以为伤害和病害所诱导，因此可能与植物细胞抵抗逆境有关。富羟脯氨酸糖蛋白还可能在次生壁形成时参与木质化的成核位点的形成。

细胞壁中还含有阿拉伯半乳聚糖蛋白（arabinogalactan protein，AGP）。这是一类高度糖基化的可溶性蛋白，阿拉伯半乳聚糖蛋白大约有 90%质量是其阿拉伯糖和半乳聚糖的残基。阿拉伯半乳聚糖蛋白的基因表达有组织和细胞的特异性。它可能在细胞间的黏合和信号转导有作用。

(2) *与细胞壁组建或与调节细胞壁特性有关的酶类*　细胞壁中含有多种酶，例如苹果酸脱氢酶、过氧化物酶、磷酸酶、以及许多糖基水解酶和转移酶，还有纤维素酶等等。

过氧化物酶在细胞壁中可以有可溶性的、离子型结合的和共价结合的三种存在形式。过氧化物酶参与细胞壁中多种组分的聚合、交联反应，以增加细胞壁的刚性，限制细胞的伸展从而调节细胞的生长。

纤维素酶的最适 pH 是 5.5～6.0，因此酸性环境有利于该酶的水解活性。纤维素虽然可以是纤维素酶的底物，但是在正常细胞壁中多数纤维素以纤维素微纤丝的结晶形式存在，纤维素酶很难接近，因此纤维素在此并非纤维素酶的主要底物。木葡聚糖也同样具有葡聚糖的主链，但是它们不呈结晶态，而是覆盖在纤维素微纤丝表面，因此木葡聚糖可能是纤维素酶在正常细胞壁中的主要底物。纤维素酶水解木葡聚糖时，只作用于主链上不带木糖侧链的葡萄糖残基，每隔 4 个残基切开主链，根据它们所带的侧链的长短，水解产物有木葡聚七糖（XG7）、木葡聚八糖（XG8）、木葡聚九糖（XG9）和木葡聚十糖（XG10）。水葡聚糖的水解产物有重要的调节功能。细胞初生壁中多糖降解产生的具有生物活性的分子称为寡糖素（oligosaccharin）。例如双子叶植物中的木葡聚九糖 XG9 具有很强的抗生长素活性，在 10 nmol/L 的浓度范围可以抑制 0.5 μmol/L 的生长素的促生长作用。

木葡聚糖内转葡糖基酶（xyloglucan endotransglycosylase，XET）是一个 33 kDa 的蛋白质，它的作用是切断和重新形成与邻近纤维素微纤丝交联的木葡聚糖，即以木葡聚糖作为供体和受体，把非还原端转给另一个木葡聚糖。XET 在初生壁代谢、木葡聚糖的生物合成和木葡聚糖和细胞壁其他组分结合中起重要作用。

（3）*细胞壁的调节蛋白*　　除了各种与细胞壁代谢有关的酶类，细胞壁中还有一些对细胞壁状态进行调节的蛋白质。

扩张蛋白（expansin）最初是在黄瓜下胚轴和燕麦胚芽鞘细胞壁中鉴定出来的，在酸性条件下可以使热失活的细胞壁恢复伸展的蛋白质。扩张蛋白对 pH 敏感，可以使热失活的细胞壁恢复酸生长活性；扩张蛋白的活性有高度专一性，只有在生长迅速的细胞，如下胚轴、胚芽鞘等部位的细胞壁中的膨胀素才具有生理活性；扩张蛋白不是细胞壁结构物质，通常只占细胞壁干重的 1/5000；扩张蛋白可以与纤维素组成的不溶性细胞壁结合，而不能和可溶性的基质以及结晶状纤维素微纤丝结合，但扩张蛋白无水解酶的活性，不能水解纤维素、半纤维素、木葡聚糖和果胶等细胞壁的结构物质。扩张蛋白可能对伸长中的细胞壁的松弛起着关键的作用。它们可逆地结合在细胞壁中纤维素微纤丝和基质多糖结合的交叉处，使其非共价键断裂，从而促进聚合物间的滑动，使细胞壁松弛。

在许多植物种属中的细胞壁中都发现存在钙调素和钙调素结合蛋白，它们可能在钙相关的信号转导中起作用。

**3. 其他**

（1）*钙*　　细胞壁是植物细胞的最大钙库。细胞壁中的钙浓度可能达到 $10^{-5} \sim 10^{-4}$ mol/L。虽然早已知道细胞壁中的钙对于细胞的伸长有关，但是细胞壁中钙的作用仍然不清楚。钙在细胞壁的果胶的羧基间形成钙桥（calcium bridge），除去细胞壁中的钙会使细胞壁的伸展性增加，因此钙可能有固化细胞壁的作用。钙也可能起重要的信使作用。

（2）*凝集素*　　凝集素（lectin）是一类能够凝集细胞或使含糖大分子发生沉淀的蛋白质。凝集素通常由几个亚基组成，多数有疏水结合部位并含有 $Mn^{2+}$、$Ca^{2+}$ 等金属离子。凝集素可能在植物的防御反应中起重要作用。

## （二）细胞壁的结构

植物细胞的细胞壁是多种多样的，对于植物的薄壁细胞来说其细胞壁比较薄通常没有明显的特征；而其他许多特化的细胞如表皮细胞、厚角细胞（collenchyma cell）、厚壁组织细胞（sclerenchyma）、木质部导管分子、韧皮部纤维等等的细胞则具有加厚的多层细胞壁。这些细胞壁常具有复杂的结构并充填有一些特殊的物质，如木质素（lignin）、角质（cutin）、硅质（silica）或者结构蛋白等。同一细胞的不同侧面的细胞壁可能有不同的厚度、不同的刻纹、不同的充填物质以及不同密度的胞间连丝。例如表皮细胞朝外一面的细胞壁通常加厚并有角质和蜡质，当然也没有胞间连丝存在；保卫细胞朝小孔一侧的细胞壁要比其他部位的细胞壁厚得多。这些细胞壁的特殊结构都是与细胞的功能相适应的。

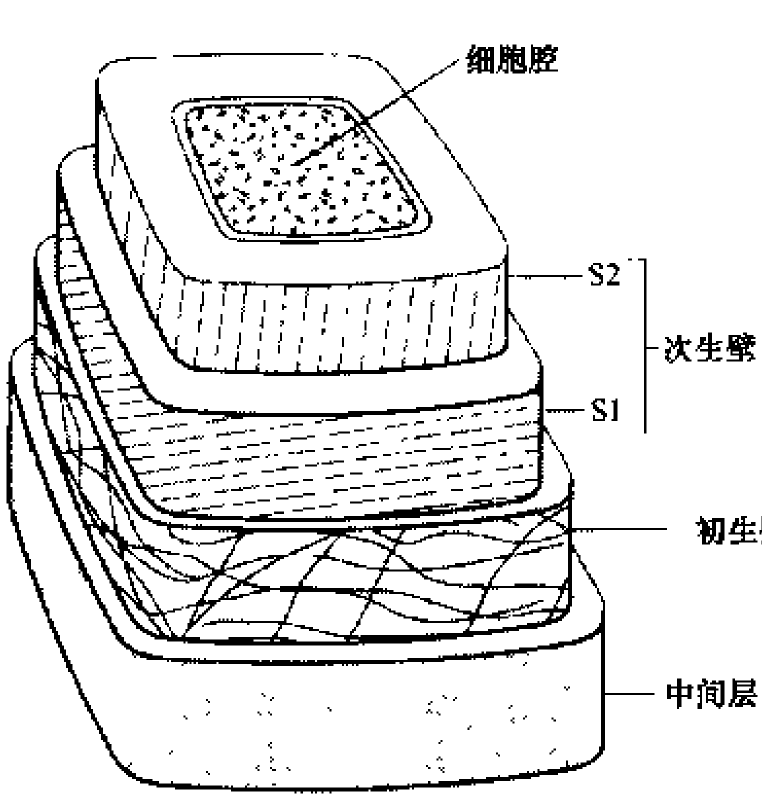



图 1-13　次生细胞壁、初生细胞壁和中胶层结构示意图（Hopkins　1995）

尽管有这样的不同，植物细胞壁一般地可以分为初生壁（primary wall）、次生壁（secondary wall）和中胶层（middle lamella）。在成熟细胞的细胞壁中以质膜向外依

次为次生壁、初生壁和中胶层三层结构(图 1-13)。

**1. 初生壁**

(1) *初生壁的结构和组成*　初生壁位于中胶层和次生壁之间。初生壁较薄，且具有弹性可随细胞的伸长而延长。初生壁在生长中的细胞中形成，在不同细胞中分子组成并无很大差异，但是其超微结构仍有很大变化。如洋葱球茎的薄壁细胞的初生壁很薄，仅 100nm 厚，而厚壁组织和表皮细胞的初生壁则厚得多且由多层组成。

初生壁的组成按干物质计算，大约是 25%的纤维素、25%的半纤维素、35%的果胶和 1%～8%的结构蛋白。当然这个组成在不同植物中有很大的差异。例如在草本植物的胚芽鞘的壁含有 60%～70%的半纤维素和 20%～25%的纤维素而果胶只有约 10%。谷类植物的胚乳细胞壁含有高达 85%的半纤维素。初生壁还含大约 75%～80%的水分，这些水主要位于基质中。基质的水合状态对于细胞壁的物理性质是一个重要的决定因素。植物壁缺水时会变得比较僵硬因而抑制细胞的生长。

细胞壁中的各种大分子多聚物如何有规律地组建到一起形成细胞壁是一个非常重要的问题，目前还有许多不明确之处。曾经有一些模型被提出来以说明初生壁的结构，其中比较有影响的是“经纬模型”。“经纬模型”假说认为：在初生壁中纤维素微纤丝穿过伸展蛋白网络并交织在一起形成网状结构，并悬浮在亲水的果胶-半纤维素胶体中，微纤丝平行于壁平面排列形成初生壁的“经”，而伸展蛋白垂直于壁平面排列形成初生壁的“纬”。纤维素微纤丝和伸展蛋白之间并无共价连结，而是通过伸展蛋白环绕微纤丝形成封闭环使之交织在一起(图1-14)。木葡聚糖以氢键与纤维素组分结合形成“门闩”，可能控制着微纤丝在伸展素网络中的滑动。

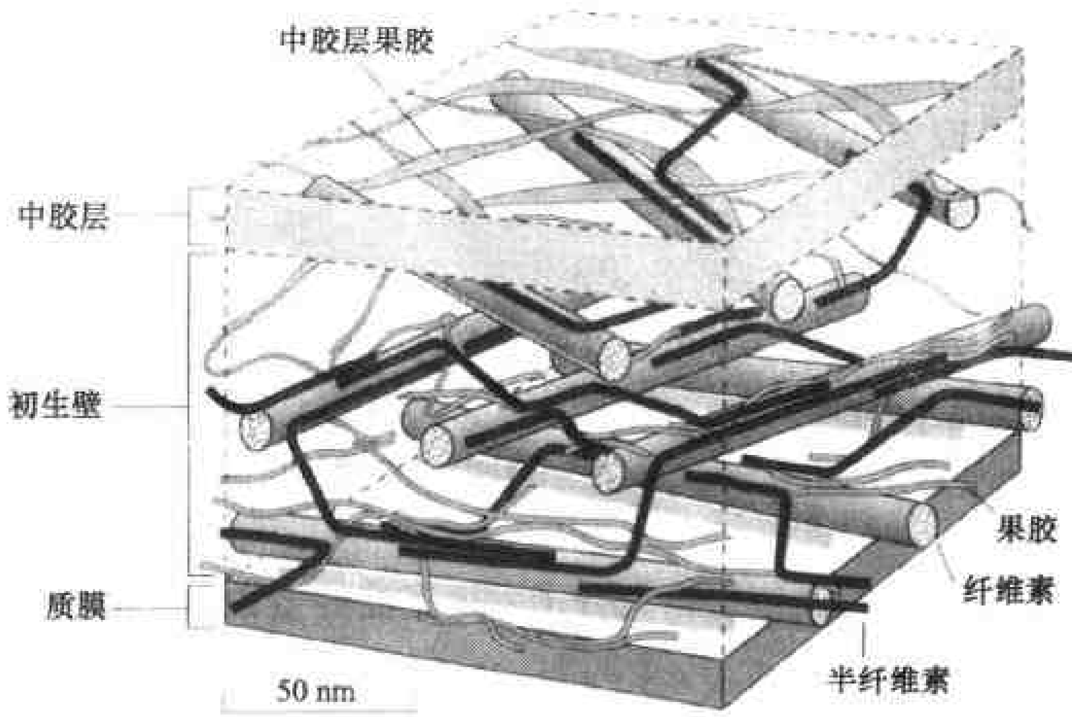



图 1-14　细胞壁的分子结构示意图 (Hopkins　1995)

(2) *初生壁的形成过程*　细胞初生壁是在胞质分裂过程中形成的，在两个子细胞间由细胞壁前体物质形成的新壁称为细胞板(cell plate)。在细胞分裂的晚后期或早末期，正在分裂的细胞中的两极纺锤丝消失，靠赤道面的纺锤丝被保留下来，并在其周围增加微管的数量，向外围扩展形成桶状的结构，称为成膜体(phragmoplast)。成膜体主要以微管和内质网组成，其中微丝也与微管并存，参与成膜过程。在细胞板形成过程中，富含成壁物质的高尔基体囊泡沿着成膜体的微管集中并排列在赤道板上，高尔基体囊泡的膜彼此发生融合并连接形成新的细胞膜，高尔基体囊泡中的内含物(主要为果胶质)被释放出来形成细胞板。

细胞板的形成也导致了细胞壁的合成，在细胞板尚未延伸到母细胞两侧壁上的时候，两个子细胞之间的新壁已开始加固，新的多糖沉积在质膜之间的细胞板上，逐渐形成中胶层。此时高尔基体囊泡持续不断地运送过来，并将其含有的细胞壁合成的前体物质释放到中胶层和质膜之间，形成初生壁。初生壁两侧膜间的膜连续部分最终形成子细胞间的胞间连丝。

在细胞的初生壁形成之后，细胞仍然可以继续生长成熟。其生长过程表现为：细胞壁物质的继续合成和分泌，细胞壁物质在细胞壁中的组装，细胞进一步扩张，直至细胞停止生长，次生壁形成。

分泌到细胞壁中的细胞壁结构物质必须按照细胞壁的结构需要进行组装、排列和交联以满足细胞功能的需要。对于细胞壁结构物质的组织机制可能有两种方式：自组装和酶促组装。细胞壁中的

多糖物质可能具有自发地组织成一定的结构的趋向。例如纤维素可以溶于强溶剂并形成人造丝(rayon);用强碱性溶剂提取半纤维素,除去溶剂后半纤维素会聚集成类似细胞壁中的网状结构;果胶是高度水溶性的,会形成分散的、各向同性的网络——凝胶(gel)。因此细胞壁的多聚物有自行形成有组织的结构的趋向。除此之外,酶在细胞壁的组织中也有重要作用。木葡聚糖内转葡糖基酶(XET)可以切断木葡聚糖链或将木葡聚糖链加到另一木葡聚糖链上,或将新合成的木葡聚糖加到细胞壁中原有的木葡聚糖上。通过这样木葡聚糖间的连接和延长,使细胞壁得以延伸。其他如糖苷酶(glycosidase)、果胶甲酯酶(pectin methyl esterase)、氧化酶(oxidase)等也可能参与细胞壁的组织。糖苷酶可以除去半纤维素的侧链因此可以使其更容易结合到微纤丝的表面。果胶甲酯酶水解封闭果胶羧基的甲酯。除去果胶羧基的封闭使果胶酸性基团增加,因此增加了果胶间形成的钙桥,促进果胶形成凝胶。氧化酶如过氧化物酶可以催化在细胞壁蛋白、果胶和其他细胞壁聚合物上的芳香族间的交联(如酪氨酸、苯丙氨酸、阿魏酸)。这些连接对于木质素的形成和其他细胞壁物质间的连接是很重要的。

**2. 次生壁**

次生壁出现在初生壁之内,一般较厚,约 5～10μm,而且坚硬,常出现在起机械支持和输导作用的植物细胞中,如导管,管胞,厚壁细胞、纤维细胞等。

当细胞的伸长生长停止后,细胞壁仍可以继续生长加厚,这时生成的壁称为次生壁。次生壁在结构和组成上高度特化,与初生壁有很大的不同。次生壁比较厚并且多层沉积,具有比初生壁含量高得多的纤维素,而且纤维素微纤丝的排列也比较有规律。在次生壁中含有木聚糖(xylan)而不是像初生壁含有木葡聚糖(xyloglucan)。次生壁常常含有木质素(Lignin)。木质素是一种不溶性的芳香类聚合物,由酚乙醇聚合而成。它们分泌到细胞壁后被过氧化物酶(peroxidase)和漆酶(laccase)所氧化。木质素在细胞壁中与纤维素紧密交联形成一个疏水的网并阻止细胞进一步伸长。木质素增加了细胞壁的机械强度以及对病原物的抵抗能力。对于动物来说木质素是难以消化的,因此,改良降低牧草中木质素的含量,可以增加草料的可消化性和营养。

**3. 中胶层**

中胶层在初生壁以外,对细胞起粘连作用。中胶层的组成和壁的其余部分很不相同,富含果胶(pectin),其蛋白成分也大不相同。中胶层的形成是在细胞分裂时就开始的。

## 二、细胞壁的功能

细胞壁是植物细胞必不可少的部分,它并不仅仅是细胞的无活性的结构骨架,几乎所有的植物细胞的生理活动都与细胞壁有一定的关系。

细胞壁的首要作用是维持细胞的形状。植物细胞的形状主要是由细胞壁决定的,植物细胞通过控制细胞壁的组织,例如微纤丝的合成部位和排列方向,从而控制了细胞的形状。

在植物细胞的伸长生长中,细胞壁的弹性大小对细胞的生长速率起重要的调节作用,同时细胞壁微纤丝的排列方向也控制着细胞的伸长方向。

细胞壁具有很高的机械强度,因而提高了细胞对外界机械伤害的抵抗力,对植物细胞起重要的保护作用。细胞壁不仅提高了植物细胞机械强度,而且为整体植物提供了重要的机械支持,高大挺拔的树木实际上也是由细胞壁支撑的。

坚硬的细胞壁是产生细胞膨压的必要因素,因此与植物细胞水分平衡有关的生理活动也是和细胞壁相关的。

细胞壁形成了植物体的质外体空间,植物体中的许多运输过程都是在其中进行的。特别是由特化的细胞壁所形成的导管在水分和矿质运输中起着不可替代的作用。

某些特殊的细胞运动也和细胞壁有关,例如植物气孔保卫细胞的变形运动就和保卫细胞细胞壁

的不均匀加厚有关。

细胞壁形成了植物细胞的天然屏障，加强了植物细胞抵御病害和逆境的能力。当植物细胞受到病原物侵染时会产生抗毒素或植保素(phytoalexin)，细胞壁中同型半乳糖醛酸聚糖和其他富含半乳糖醛酸的寡糖素可能作为植物内源的诱导物诱导组织合成抗毒素。当植物遭受伤害时会诱导合成大量特异蛋白质，以抑制昆虫或微生物的蛋白酶，这种合成也可被寡糖素所诱导。

细胞壁是植物细胞的外被，它可以通过和细胞的质膜上的蛋白质相互作用将外界的环境信号传递给细胞。细胞壁中有许多具有生物学活性的物质，例如前述的由多糖降解产生的具有生物活性的分子寡糖素可能就有重要的信息分子的作用。

## 第五节　胞间连丝和细胞间联络

胞间连丝(plasmodesma)是植物细胞间质膜的管状延伸，直径约 40～50nm，是相邻细胞间穿通细胞壁的细胞质通路。由于植物体中大多数细胞间都有胞间连丝相连，因此形成一个细胞原生质连续的整体，称为共质体(symplast)。胞间连丝在细胞间的物质运输和信息传递中起着非常重要的作用。

### 一、胞间连丝的结构、分布和形态

#### (一) 胞间连丝的亚显微结构

胞间连丝具有非常复杂的亚显微结构。由于其结构的复杂和观察困难，虽然有许多模型被提出来，但其中仍有许多不确定之处。目前较为普遍接受的模型如图 1-15 所示。胞间连丝孔道外围是相邻细胞质膜延续和连接所形成的管道，在管道中央是内质网压缩成的狭窄小管，称为连丝小管(desmotubule)，连丝小管的两端分别同两边细胞的内质网膜相连，因此由于胞间连丝的存在，植物细胞不仅形成原生质的连续整体，而且其内质网也是连续的。虽然从理论上讲连丝小管可以作为细胞间物质运输的通道，但是目前一般认为胞间连丝中连丝小管被挤压在一起，是封闭的，因此不能形成有效的运输通道。从横切面看，中央连丝小管和胞间连丝外膜间是一环形结构，称为孔环(annulus)。对于大多数可以通过胞间连丝的物质来说，孔环是最可能的扩散通道。但是虽然孔环约宽5～6nm，

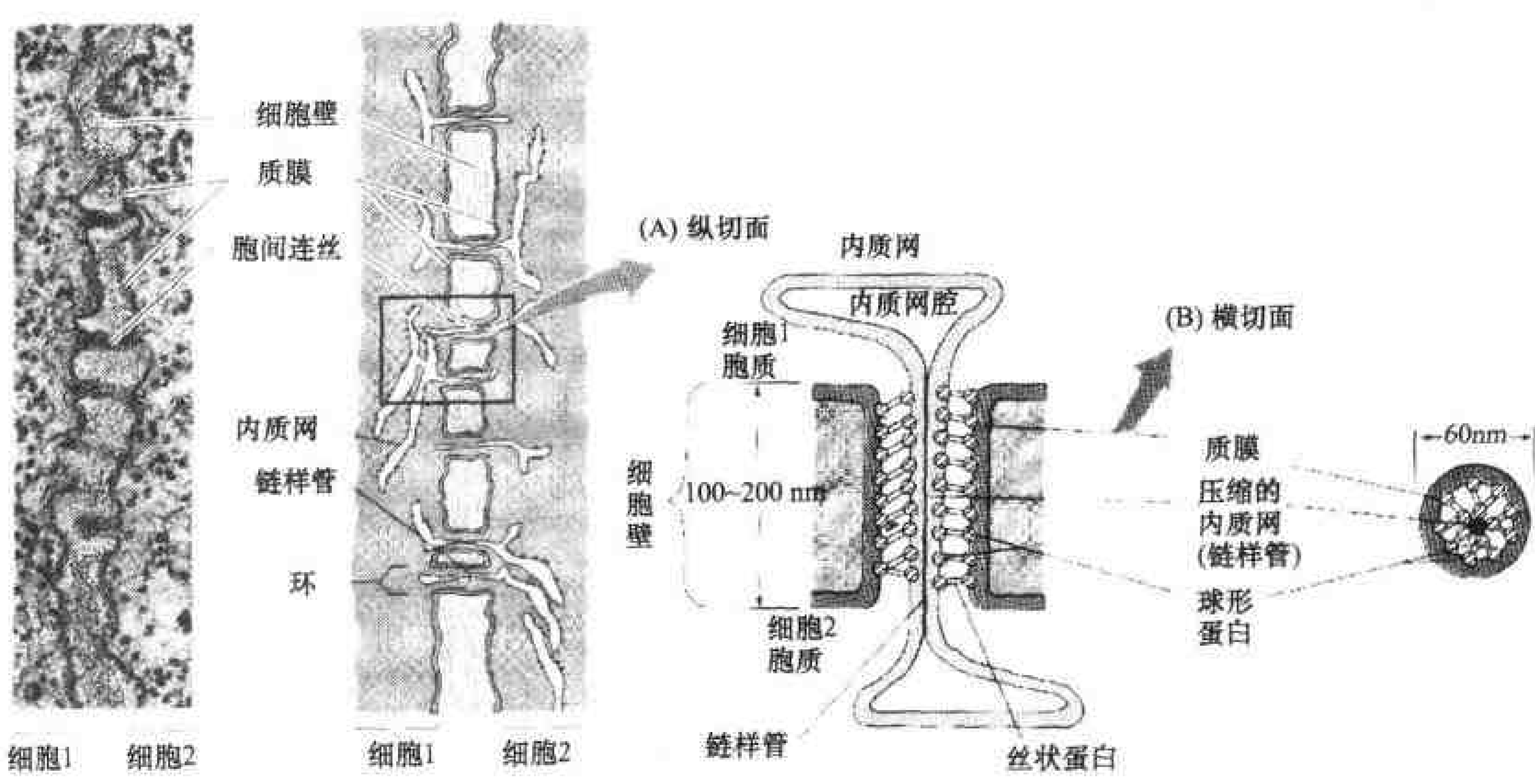



图 1-15　胞间连丝结构示意图 (Taiz & Zeiger　1998)

可以通过正常胞间连丝的分子大小却一般不超过 1.5～2.0 nm，形成这种差异的原因是由于在孔环中有一些直径约 3 nm 球状的蛋白，这些蛋白质通过另一些辐条状的蛋白质将连丝小管和胞间连丝外围膜联系起来，进一步将外围膜和连丝小管之间的空间划分为 8～10 个微通道，微孔道的直径大约在 2.5 nm 左右，因此和可以扩散通过胞间连丝的分子的大小是大致相符的。

### （二）胞间连丝的分布和形态

胞间连丝在细胞中的分布密度低的不到 1 个/$\mu m^2$，高的可达 10 个/$\mu m^2$ 或更多。胞间连丝在细胞壁的分布密度常是不均匀的，例如在次生加厚的细胞壁中，胞间连丝集中分布在初生纹孔场，其局部密度可达 30～40 个/$\mu m^2$。胞间连丝的孔径也会扩大，当大于 0.1$\mu$m 时称为扩大的胞间连丝。在一定植物组织和发育时期，胞间连丝可能发生结构的变化而成为胞间的通道，细胞的原生质可以通过胞间通道从一个细胞向相邻细胞转移。细胞器，甚至细胞核都可以发生形变通过胞间通道在细胞间转移，即发生"核穿壁"现象。胞间连丝的形态还会出现"X"或"Y"形的分叉结构，这种结构常出现在筛管分子和伴胞间。

### （三）胞间连丝的形成

胞间连丝可以根据其生成的方式分为初生胞间连丝（primary plasmodesma）和次生胞间连丝（secondary plasmodesma）。

初生胞间连丝是在细胞分裂过程中胞质分裂时形成的胞间连丝。胞质分裂时，细胞内质网有控制地穿越细胞板，定位形成胞间连丝的位置；含有组成细胞壁的前体物质的来自高尔基体的小泡汇集到细胞板的位置，形成细胞壁的前体和细胞膜；在有内质网穿越的位置，高尔基小泡围绕内质网融合并形成穿越细胞板的细胞膜管道，形成最初的细胞间原生质桥；以后壁逐渐加厚，原生质桥中的内质网被压缩形成连丝小管，连同围绕连丝小管的胞质孔环，即形成初生胞间连丝。

次生胞间连丝是在细胞壁形成以后形成的胞间连丝。在细胞伸长过程中有次生胞间连丝的形成。例如玉米、萝卜、高粱和白车轴草等多种植物在根延长区的细胞伸长了 4 倍的情况下，其径向壁上胞间连丝的分布密度并未减少；尤其是玉米根延长区径向壁的胞间连丝密度由 3.1 个/$\mu m^2$ 增加到 12.9 个/$\mu m^2$，说明在细胞伸长过程中有次生胞间连丝的形成。在细胞的发育过程中也有次生胞间连丝的形成。例如在泥炭藓叶片细胞的发育过程中，胞间连丝密度随发育有一个先下降，之后又增加的过程。次生胞间连丝的形成首先是内质网与质膜发生接触，这时该部位的细胞壁发生松弛变薄，之后质膜连同内质网向外突出形成小管，小管逐渐突破细胞壁到相邻细胞并与之质膜融合，最终形成胞间连丝。相邻细胞也会发生相同的过程，当相邻细胞的突出小管在细胞壁中相遇并发生质膜的融合，即形成次生胞间连丝。

## 二、物质通过胞间连丝的运动

胞间连丝在植物细胞间形成了一个连续的原生质通道，许多物质可以通过胞间连丝在细胞间进行运输而无需经过跨膜的过程。

### （一）胞间连丝的通透性

虽然胞间连丝是植物细胞间方便和快捷的物质运输通道，但是通过胞间连丝的分子大小是受一定限制的，即胞间连丝的通透性（permeability）。这种限制通常用"分子质量排除限"（size exclusion limit，SEL）来表示。SEL 所给出的数值是指可以经扩散通过胞间连丝的分子的最高分子质量，也就是说，当分子的分子质量小于该值时可以通过胞间连丝扩散到相邻细胞而大于该值时则不能通过胞

间连丝。利用显微注射荧光分子探针的方法测定 SEL 的结果表明，大多数植物细胞的胞间连丝的 SEL 在 700～1000Da 之间，相当于直径 1.5～2.0 nm 大小的分子。但是 SEL 可以随细胞的发育而发生改变，例如紫竹梅雄蕊毛在花蕾形成的早期其胞间连丝可以允许分子质量40 000Da的荧光分子通过，而到开花时胞间连丝的 SEL 则降到1000Da以下，花衰老时又有提高。胞间连丝的 SEL 也会受到某些细胞因子的调节，例如细胞膨压的提高会引起胞间连丝通道的关闭，细胞内钙离子浓度提高也会引起同样的效果。

## （二）物质通过胞间连丝的运输方式

**1. 通过胞间连丝的扩散运动**

物质，特别是小分子物质通过胞间连丝的运动通常是以顺浓度梯度的扩散方式进行的，如果消除或改变胞间连丝两侧运输物质的浓度差可以阻止该物质的运输甚至改变运输的方向；如果在胞间连丝两侧有不同物质形成的相反的浓度梯度，这些物质将各自沿其浓度梯度向相反的方向运输。

**2. 通过胞间连丝大分子运输**

虽然早期的研究结果认为只有小分子的物质可以通过胞间连丝扩散，但是近期的研究表明，大分子物质如蛋白质、RNA 等也可以通过胞间连丝在细胞间进行运输。而通过胞间连丝的大分子运输通常需要特殊的胞间连丝的调节过程。许多植物病毒分子可以通过胞间连丝在细胞间运动而实现病毒的侵染。这些植物病毒通常编码一种或几种蛋白，这种蛋白对于病毒分子在细胞间的运动是至关重要的，如果缺少此蛋白病毒分子就不能在细胞间运动，因此这类蛋白被称作运动蛋白（movement protein）。对运动蛋白的研究结果表明，运动蛋白可以增加胞间连丝的 SEL 从而完成病毒分子的胞间运动。目前有一种看法认为：植物病毒的运动蛋白从进化上来源于植物内源的运动蛋白，植物病毒是通过“窃取”植物本身的大分子胞间运动机制从而完成其在植物细胞间的侵染过程。在植物体中明显存在大分子胞间运输的组织是筛管分子-伴胞复合体。成熟筛管分子是没有细胞核的生活细胞，在筛管中存在许多不同种类的蛋白质，由于在筛管中不能进行蛋白质的合成，因此这些蛋白质只能来自与筛管相邻的伴胞。伴胞具有浓厚的原生质，进行着活跃的蛋白质合成，但是并不清楚在伴胞中合成的蛋白质是如何通过胞间连丝进入筛管的。利用显微注射的方法将某些筛管蛋白注射进叶肉细胞发现胞间连丝的 SEL 明显提高，说明筛管蛋白中存在类似病毒运动蛋白的植物内源运动蛋白。因此在植物体中存在内源的运动蛋白，这些运动蛋白可以通过调节胞间连丝的通透性帮助大分子在细胞间进行运输。

# 小　　结

细胞不仅是一切生物体结构的基本单位，同时也是一切生物的功能的基本单位，因此各种植物生理的活动的最终解释和阐明都需要到植物细胞中去找寻。尽管植物细胞与其他非植物的真核细胞相比，都有一些共同的基本组成和结构，但是植物细胞具有一些特殊的细胞结构，例如植物细胞具有进行光合作用的叶绿体，大多数植物细胞具有中央大液泡以及绝大多数植物细胞都具有坚硬的细胞壁等等。这些细胞结构在植物的生理活动中起着极为重要的作用。在许多植物细胞中，中央大液泡占据了细胞的大部分体积，中央大液泡的存在扩大了植物细胞与外界物质、能量和信息的交流；由于中央大液泡对细胞膨压的作用，使其在植物的生长、光合和蒸腾（通过气孔运动）等等重要的植物生理过程中都有不可取代的作用。植物细胞的细胞壁并不仅仅是一个保护细胞的坚硬外壳，它事实上是植物细胞的外被，在植物细胞的生长调节和许多信息传递过程中起重要的作用。植物细胞间存在的胞间连丝使植物体形成一个连续的系统，成为植物体和植物细胞间重要的物质运输和信息传递通道。

**思考题**

(1) 质膜有哪些重要的组分？这些组分是如何形成质膜的基本结构的？

(2) 蛋白质是如何在内质网上合成，并经过高尔基体糖基化的？

(3) 高等植物细胞的中央大液泡有何重要功能？

(4) 请描述细胞核的基本结构。

(5) 大分子物质是如何通过核膜在细胞核内外间进行运输的？

(6) 微丝有哪些重要的功能？

(7) 植物有哪些特有的微管列阵，它们的功能是什么？

(8) 细胞壁的基本组分有哪些，它们在细胞壁中的作用是什么？

(9) 请描述细胞壁的基本结构。

(10) 胞间连丝是如何控制细胞间的物质运输的？

# 第二章　水与植物细胞

水是生命的源泉，生命不仅发生于水的环境，而且生命过程必须在水的环境中进行。

水是原生质的最主要组成成分，原生质的含水量大约在70%～90%。水是自然界最丰富的溶剂，对于大多数物质来说也是最好的溶剂。在细胞中物质的代谢、运输都是在水溶液中进行。在生物体中，细胞间的信号传递和物质运输也是在水溶液中进行。因此水是细胞中各种生物化学的代谢反应的基本介质。水同时又直接参加了许多生物化学反应，例如水解和脱氢反应。对于绿色植物细胞来说，水和二氧化碳是进行光合作用的基本原料。水不仅参与细胞的代谢活动，而且对于生物大分子，如蛋白质、核酸、多糖等的构象有重要的影响。细胞的含水量与其生理活动是否活跃常常是密切相关的，当细胞含水量充足时其生理活动常较活跃，而当含水量降低时细胞的生命活动也会减弱。

对于植物来说水具有特殊的重要性。与动物细胞不同，植物细胞具有膨压，这是通过水分关系的平衡建立起来的。植物细胞的膨压是细胞生长的必要条件；在叶片的气体交换中，保卫细胞起着关键的作用，而保卫细胞的运动是由细胞的膨压所控制的；膨压在韧皮部以及其他的运输过程中也起着重要作用；膨压对于维持植物的坚挺姿态、叶片的伸展、根的下扎等都是非常重要的。

## 第一节　水的物理化学性质

正是由于水的特殊的物理化学性质使得水成为生命活动的介质。

### 一、水分子的结构和氢键

水分子的基本结构是一个氧原子与两个氢原子以共价键结合，两个O—H键之间的角度为105°（图2-1）。水分子中氧原子比氢原子更具电负性，因此较多地吸引O—H共价键的电子，这样就使得氧原子带有部分的负电荷而氢原子带有部分的正电荷，但是两部分的电荷量是相等的，因此整个水分子仍然保持电中性。此外，水分子在分子结构上是非对称性的，因此使得水分子成为一个极性分子。

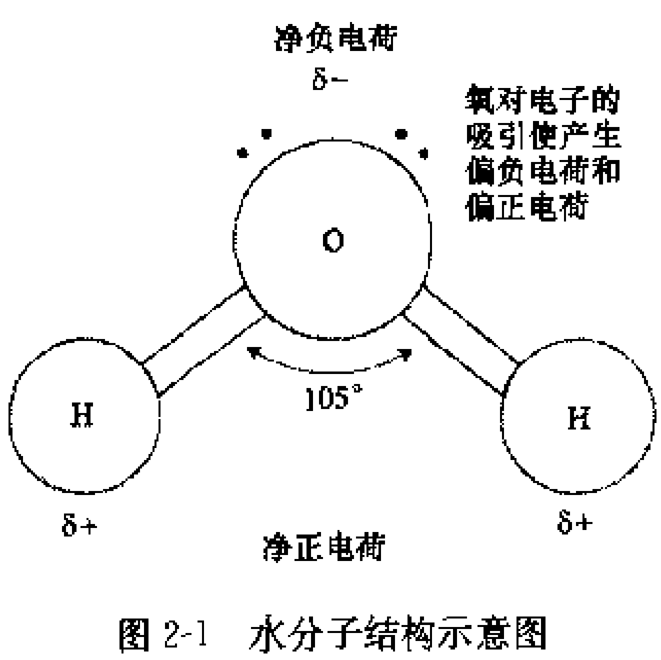



图2-1　水分子结构示意图
（Taiz & Zeiger　1998）

一个水分子上的部分带负电荷的氧原子会吸引另一个水分子上的部分带正电荷的氢原子。这种水分子间微弱的静电引力称之为氢键（hydrogen bond）。水分子间的氢键作用是许多水的物理特性产生的原因。氢键也可以在水分子和其他的含有电负性原子的分子（例如O或者N）之间产生。

当然氢键并不仅仅只产生在水分子或水分子和其他分子之间，只要氢原子在电负性中心之间就会产生氢键，例如乙醇的—OH基，蛋白质和核酸的$—NH_2$基和 >C=O 基等。因此氢键对于许多重要大分子物质，如蛋白质、多糖、核酸等的结构具有极其重要的影响。例如，DNA双链结构就是依靠氢键来稳定的。

# 二、水的物理化学性质

## （一）水的溶解特性

如前所述，水分子具有极性，这种极性使得水成为生命活动中最重要的溶剂。水可以溶解多种多样的溶质，它是目前已知溶剂中溶解范围最宽的溶剂。水分子的溶解特性主要由两个因素决定：一是水分子的体积很小；二是水分子的极性。水分子具有极性，使得它特别适合溶解离子以及带有极性基团，如 -OH和—$NH_2$的大分子物质。在水溶液中，水分子可以排列在离子表面"屏蔽"其电荷，从而降低离子间的静电作用，增加其溶解性。此外水分子还可以排列在大分子的极性基团表面，形成水合层(hydration shell)，大分子和水分子间的氢键作用力会降低大分子间的作用力从而使其溶入水中。

在生物体内，水常以束缚水和自由水两种状态存在。束缚水(bound water)是指紧密吸附在胶体颗粒或大分子表面不能移动的水。在重要的生物大分子表面形成的水合层对这些大分子的稳定性有很重要的作用，在水合的蛋白质中这样的束缚水可以占到30%。自由水(free water)是指不被吸附可以自由移动的水。束缚水被胶体或大分子吸附，因此不能再起溶剂的作用，而自由水才能起溶剂的作用。在生物体中这两部分水的含量和比例的大小是变动的，并对细胞的生理活动产生影响。

## （二）水的物理化学特性

由于水分子氢键的存在，使水具有独特的热力学特性，具有较高的比热(specific heat)和蒸发潜热(latent heat of vaporization)。

比热是指提高单位数量的某物质单位温度所需要的热量。由于水分子间存在氢键，因此要提高水的温度，或者说要提高水分子的振动频率就需要增加多余的能量以打断水分子间的氢键。因此水比较其他溶剂需要更多的能量以提高温度，也就是说具有较高的比热。水的高比热特性对于细胞来说是非常重要的，因为高比热意味着水的温度不容易发生改变，这样以水为介质的生命体系就可以在相对稳定的条件下进行。

蒸发潜热是指在恒定温度下，使某物质由液相转变为气相所需要的热量。在25℃时，水的蒸发潜热是44kJ/mol，是所有已知溶剂中最高的。水蒸发潜热高也是由于水分子间氢键的影响，水蒸发的能量大部分用于打断水分子间的氢键。水蒸发潜热高的特性对于植物是很重要的，因为植物叶片通过水分蒸发消耗过多吸收的光能从而避免温度升高对细胞造成伤害。

在水和空气间界面上的水分子的两边是不同的分子，界面水分子与邻近水分子的作用力大于其与空气分子间的作用力，因此水总是倾向于维持最小的水和空气间的界面。这样在水和空气间的界面产生一种力——称为表面张力(surface tension)。表面张力不仅影响水面的形状，而且对水的其余部分产生压力。在导管的水分运输中，表面张力维持了水流的连续性。水分子间的氢键使水分子有相互的吸引力，称为内聚力(cohesion)。水分子与固相，例如植物导管壁表面分子之间的吸引力称为附着力(adhesion)。水的表面张力、内聚力和附着力的共同作用使水分可以在较小直径的毛细管中上升到一定的高度，称之为毛细现象(capillarity)。在毛细现象中水分可上升的高度与毛细管的半径成反比，在越细小的管道中水分上升的高度就越高。在植物木质部导管的水分的运输中，毛细作用只能在较低的高度中起作用，而对高大树木的水分运输来说是远远不够的。但是细胞壁中有许多非常细的孔道(半径约$10^{-8}$m)，因此可以产生很大的力作用于在其中运输的水分，这对于在细胞表面进行蒸发时维持水分的连续性是非常重要的。

物体抵抗拉力而不被拉断的能力称为抗张强度(tensile strength)。由于水分子间的内聚力，水具有很高的张力强度，因此水柱可以抵抗外界的拉力而不会被拉断。水柱的张力强度可以达到相当高

的程度。实验表明小水柱的张力强度可以达到－30MPa。尽管这一数据尚未达到理论计算值，但已经是铜或铝线张力强度的10%。因此水柱的张力强度是相当高的。水柱的连续性是水柱能够抗拉力的基础，一旦水柱内有气泡产生，水柱就会立即发生断裂。

# 第二节　植物细胞的水分关系

在大多数的生理状态下，植物细胞都要不断地进行水分的吸收和散失，在整体植物中还有不同组织细胞间水分的分配和调节。因此水总是在植物细胞的内外和细胞之间进行着不断的运动。水分的这种运动对于植物细胞和整体植物生理活动的进行是非常重要的。例如，植物导管和筛管中的物质运输，气孔的运动等等都离不开水分的运动。同时，水分的转移和运动又是受到植物细胞的生理活动的调节和控制的。

## 一、水　　势

### （一）水势的概念

不同的体系都具有一定的内能。体系内能包括体系中分子的热运动以及分子间和分子内部相互间的势能。当体系间发生物质的交换时，体系的内能也会发生改变。在物理化学中可以用化学势的概念来表示。体系中某组分的化学势 $\mu_j$ 可以理解为等温等压条件下在无限大的体系中，加入1mol该物质(j)时引起体系自由能的改变量。自由能则是恒温恒压条件下，体系能做有用功的那部分能量。化学势的绝对值是不能测定的，通常以给定状态和人为规定的标准状态的差值来表示。化学势的度量单位是每摩尔的能量，如焦尔/摩尔(J/mol)。

在体系间发生物质的交换过程中有一些过程是可以自发进行的，例如水分从高处流向低处，热量由高温处流向低温处，电流从高电势流向低电势等。一般来说，体系总是自发地向使其自由能降低的方向进行，因此体系的化学势可以指示组分在体系间的转移趋势。例如，设组分 j 在地点 A 和地点 B 的化学势分别为 $\mu_j^A$ 和 $\mu_j^B$。当 $\mu_j^A > \mu_j^B$ 时，组分 j 将自发地从地点 A 转移到地点 B。当 $\mu_j^A < \mu_j^B$ 时，组分 j 不能自发地从地点 A 转移到地点 B，只有从外界输入大于 $\mu_j^A - \mu_j^B$ 的能量，才能使组分 j 从地点 A 转移到地点 B。当 $\mu_j^A = \mu_j^B$ 时，地点 A 和地点 B 间没有组分 j 的净转移。

水的运动方向和其他物质的转移一样可以用体系的化学势来指示。在植物生理学研究中常使用水势(water potential)的概念，但是植物生理学中水势的定义并不是"水的化学势差"而是每偏摩尔体积的水的化学势差，以 $\Psi_w$ 表示：

$$\Psi_w = \frac{\mu_w - \mu_w^0}{V_w} = \frac{\Delta\mu_w}{V_w} \tag{2.1}$$

式中 $\mu_w$ 为一定条件下水的化学势，$\mu_w^0$ 为在一定条件下纯自由水的化学势，$V_w$ 为水的偏摩尔体积，即在温度、压强及其他组分不变的条件下，在无限大体系中加入1mol水时对体系体积的增量。$V_w$ 也可以近似地代之以纯水的摩尔体积 $V_w$(= $18\times10^{-6}m^3/mol$)。因此，水势的概念也可以理解为体系中的水与纯水之间每单位体积的自由能差。水势的单位是J/mol，这与压力的单位是相同的，如Pa(Pascal，帕斯卡)或MPa(兆帕)常用于水势单位。

### （二）溶液水势的组成

溶液中水势的组分可由下式表示：

$$\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_g \tag{2.2}$$

其中 $\Psi_w$＝水势；$\Psi_s$、$\Psi_p$ 和 $\Psi_g$ 分别表示溶质浓度、压力和重力对水的自由能的影响。

**1. 溶质势**

$\Psi_s$称为溶质势或渗透势(solute potential 或 osmotic potential)。溶质势表示溶质对水势的作用，溶质通过“稀释”水而降低水的自由能，这主要是熵的效应，即溶质和水混合增加了系统的无序性，因而降低了水的自由能。对于非结合的物质的稀溶液，渗透势可以由范德霍夫(Van't Hoff)方程式估算：

$$\Psi_s = -RTC_s \tag{2.3}$$

R 为气体常数[=8.32J/(mol·K)]；$T$ 为热力学温度，以开尔文(Kelvin)为单位；$C_s$为溶质的浓度，以克分子渗透浓度(非国标用法)，或每升水中完全溶解的溶质的摩尔数来表示(mol/L)，负号表示溶解的溶质降低溶液的水势。

如果溶质溶解为两个或多个离子，其渗透效应数将相应地以溶解后的离子数进行计算，如 0.1mol 的葡萄糖溶于水后，浓度为 0.1mol/L 而 0.1mol 的 NaCl 溶于水后，渗透效应数为 0.2mol/L。在 20℃(293K)温度时，上述葡萄糖溶液的渗透势为－0.244MPa，而 NaCl 溶液为－0.488MPa。

**2. 压力势**

$\Psi_p$是由于溶液的静水压(hydrostatic pressure)所增加的溶液的水势。在植物细胞中，这个压力常称作膨压(turgor pressure)，植物细胞的膨压是由于细胞吸水后相对较为刚性的细胞壁对细胞体积的限制所造成的。溶液的静水压也可以是负值，如在植物的木质部导管中，溶液处于负压力下，这对水的长距离运输是很重要的。

值得注意的是，静水压是以溶液压力与周围压力的差值为衡量的，因此当纯水的压力与周围压力相同，即 $\Psi_p=0$ 时，尽管水的绝对压力大约为 0.1MPa(因为大气的压力的缘故)，而在绝对真空时，水的 $\Psi_p=-0.1$MPa，而实际水的压力为 0，因此，水的绝对压力和 $\Psi_p$是不相同的。

**3. 重力**

重力对水势的影响可表示为：

$$\Psi_g = P_w gh \tag{2.4}$$

$P_w$为水的密度；g 为重力加速度；$h$ 为水相对参考状态时的高度；其中 $P_w g$ 约等于 0.01MPa/m。因此，10m 的高度对水势产生约 0.1MPa 的增量。

**4. 衬质势**

衬质势(matric potential)是由于亲水的衬质与水分子的相互作用使水的自由能降低的那部分水势。例如当水分子附着在土壤颗粒、细胞壁、细胞内亲水蛋白质或其他物质表面时，会形成一两个水分子厚度的薄层，在细胞壁中的微小孔道可以形成毛细管力，因此水的自由能被降低，这种自由能的降低即衬质势。理论上可以把这种表面作用归于溶质势和压力势的作用，但是在实际上很难区分表面作用所引起的溶质势和压力势，因此常把它们合称衬质势。在一般情况下，特别是水合的细胞和细胞壁中衬质势常可忽略或者作为压力势的扣除，例如，在叶片蒸发表面的细胞壁的微毛细管道中，所保持的水分具有负压，被称为壁衬质势。

在许多情况下，水势可以看着是溶质势和压力势之和，即：

$$\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p \tag{2.5}$$

例如，当纯水置于大气中时，其静水压与大气压力相同，因此，$\Psi_p=0$，纯水不含溶质，因此 $\Psi_s=0$，这样水势 $\Psi_w=\Psi_s+\Psi_p=0$，如果在纯水中加入蔗糖使其浓度达成到 0.1mol/L，这时溶液的溶质势会降低为－0.244MPa；水势 $\Psi_w=\Psi_s+\Psi_p=-0.244$MPa。因此，当溶液置于大气压力条件时($\Psi_p=0$)，$\Psi_w=\Psi_s$，即水势等于溶质势。

无论系统的水势组成有何不同，水分在系统间的转移方向通常是由系统的水势差所决定的。水总是顺水势梯度从水势高的地点转移到水势低的地点。

## 二、水分的运动

### （一）扩　　散

由于热力学运动或随机的动力学活性所引起的分子（气体分子、水分子或溶质分子）从一点到另一点的运动称为扩散（diffusion）。扩散是分子从较高化学势向较低化学势的随机的但是累进的运动，通常导致扩散分子的均匀分布。在没有压力势、电势等影响的情况下，扩散分子是从高浓度部位向低浓度进行。在这样的系统中，扩散速率与浓度梯度成正比，即符合非克第一定律（Fick's first law）：

$$J_s = -D_s \cdot \frac{C_s}{x} \tag{2.6}$$

扩散速率是指单位时间内，物质经过单位面积的数量，用摩尔/（米$^2$・秒）表示[mol/(m$^2$・s)]。$D_s$称为扩散系数，是物质在一定系统中扩散的比例常数。扩散系数是扩散分子的特征常数，一般分子量较大的分子，具有较小的扩散系数。此外，扩散系数也与扩散介质有关，例如，分子在空气中的扩散系数比在水中要大得多。在很多情况下，浓度梯度 $C_s/x$ 也可用 $\Delta C_s/\Delta x$，即两点间浓度差值与两点距离之比来表示。方程式中的负号是表示扩散运动的方向是顺浓度梯度进行的。

根据非克第一定律，物质在浓度梯度越陡的情况下，运动的速率越高。

从非克定律，我们可以推导出一种物质扩散一定距离所需的时间，通常用物质在距起始点任意距离上的浓度达到起始点浓度的二分之一所需的时间来量度：

$$t_{C=1/2} = K \cdot \frac{(\text{距离})^2}{D_s} \tag{2.7}$$

其中 $K$ 是依赖于系统形状的常数。

此公式表明，物质通过扩散经过一定距离所需的时间和这段距离长短的平方成正比。如果假定 $K$ 值为 1，我们可以考察一下葡萄糖在细胞中扩散所需的时间，葡萄糖的扩散系数 $D_s$大约为 $10^{-9}$ $m^2/s$，细胞中的扩散距离为 50μm，代入上式，可以得到 $t_{C=1/2}=2.5s$。因此，像葡萄糖这样的小分子物质在细胞尺度的距离的扩散速度是足够快的，但是如果我们将扩散距离增加到 1m，并用上试计算，可以得到 $t_{C=1/2}=32$ 年，因此，虽然在小尺度的距离内扩散可以作为物质运输的有效方式，但在长距离的运输中，扩散的速率是远远不够的。

### （二）集　　流

在以下我们将考察另一类溶液的运动方式——集流。由于压力差的存在而形成的大量分子集体的运动称为集流（bulk flow）。这种压力差可以由重力或机械力产生，例如水从高处流向低处；以及用力压迫针筒的推杆使溶液从针尖流出等等。集流是植物进行长距离运输的重要方式。

在植物体中最常见的溶液的集流是木质部导管和韧皮部筛管中溶液的流动。集流在一个管道中的流动速率取决于管道的半径、溶液的黏度以及推动集流的压力差，可用 Poiseuille 方程表示：

$$\text{体积流速} = \left(\frac{\pi r^4}{8\eta}\right)\left(\frac{\partial \Psi_p}{\partial x}\right) \tag{2.8}$$

集流速率的单位是 $m^3/s$，方程式中：$r$=管道半径；$\eta$=溶液黏度；$\Psi_p/x$=压力差。

从方程可以看到，集流的流速对管道的粗细非常敏感，如果管道加倍，体积流速将增加到原值的 $2^4$ 倍，虽然集流中溶质的浓度对黏度有一定影响，但其影响很小可忽略。因此，浓度对流速的影响较小，集流的速率与压力差成正比。

### （三）渗　　透

当溶液被膜分隔为两个部分，溶质无法跨膜运动时，溶剂的跨膜扩散运动称之为渗透（osmosis）。

水的跨膜运动——渗透是沿自由能梯度或水势梯度进行的。如果用半透膜将浓度不同的两种溶液分隔开，经过一段时间就会发现水从浓度较低的溶液透过膜进入浓度较高的溶液。在这个系统中溶液的水势主要是由溶液的渗透势所决定的，溶质浓度较低的溶液具有较高的水势而溶质浓度较高的溶液具有较低的水势，因此水是从低浓度溶液转移到高浓度溶液。水跨半透膜的渗透主要是扩散运动。

成熟的植物细胞中存在的中央大液泡内的液体，可以看作是细胞的内部溶液，包围着液泡的液泡膜、原生质和细胞膜，可以允许水分子的通过但其他分子则较难或不能通过，因而可以认为是细胞的半透膜，而细胞以外的是细胞外溶液，这样就会发生渗透现象。

但是在水跨植物细胞膜的渗透过程中，渗透的进行与扩散和集流都有关系。在扩散中，分子的运动由浓度梯度推动；在集流中，压力梯度则是集流的动力。水跨细胞膜的渗透运动包括水分子跨膜的扩散以及水通过膜上蛋白通道(水通道)的微集流运动。由细胞溶质的积累形成的细胞内外的渗透势梯度对植物的水分吸收有重要的作用。对于生活的植物细胞而言，细胞的渗透势是可调节的，会因内外条件的不同而变化。特别是某些运动细胞，如保卫细胞的渗透调节对于其功能是至关重要的。一般来说，大多数温带生长作物的叶细胞的渗透势为－2MPa～－1MPa，沙漠地区旱生植物叶细胞的渗透势可到－10MPa。虽然在过去的研究中发现水的跨膜扩散不足以解释细胞的渗透现象，但是一直不能肯定水的跨膜渗透是否包含细胞膜上的通道的微集流。近年来发现膜上存在蛋白质组成的对水特异通透的孔道，称为水通道(aquaporin)，这种水通道有利于水分子的跨膜运动。水通道跨膜运输的能力可以被其磷酸化所调节，在水通道蛋白的氨基酸残基上加上或除去磷酸就可以改变其对水的通透性，从而也调节了细胞膜对水的通透性。因此，细胞内外溶质的浓度梯度和细胞膨压所形成的压力梯度都是植物细胞渗透进行的动力。

水的运动是一个被动的过程，在水的运动过程中，并不需要如同泵一类的耗能的过程。值得注意的是，如果运输的物质仅仅是水，那么水的运动从总体上讲是从水势高的区域向水势低的区域的运动，但是在一些跨膜的短距离运输，或者韧皮部的长距离运输中，水将同一些溶质共同运输而这种运输有可能是逆水势梯度进行的。例如，在韧皮部汁液从叶到根的流动是逆水势梯度进行的。在另一些情况下，糖、氨基酸以及其他小分子由膜蛋白进行运输时，是与水分子的运输偶联进行的，运输 1 分子溶质的同时运输 260 个水分子。这样的运动并不违背热力定律，因为在运输过程中，溶质失去的自由能多于水分子得到的自由能。因此，总的运输过程是失去自由能。但是，在植物体中大多数水分运动是顺水势梯度进行的。

无论水的运动采用何种方式，水分运输的速率将决定于驱动力和水导(hydraulic conductance)。(水导是水流通过该系统难易程度的量度，是系统对水流阻力的倒数，可以类比于表示某系统通过电流难易程度的电导。)例如在集流运动中，压力梯度是水分运输的驱动力，压力梯度越陡水的运输速率也越高；影响水导的因素较复杂，溶液的黏滞度、集流系统的形状等都对水导有影响。

## 三、植物细胞水势

### (一) 植物细胞水势的组成

如上所述，水分进入细胞也是顺其水势梯度进行的(图 2-2)。植物细胞水势的计算也常用简化的方程 $\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p$ 进行处理。

假设有一个萎蔫的细胞(此时细胞无膨压)，其中的溶质浓度为 0.3mol/L，根据范德霍方程式估算其溶质势为 $\Psi_s = -0.732$MPa，由于细胞中膨压 $\Psi_p = 0$，因此该细胞的水势 $\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p = \Psi_s = -0.732$MPa，如果将此细胞置于 0.1mol/L 的蔗糖溶液中，由于溶液水势为－0.244MPa，而细胞的水势为－0.732MPa，水将从水势高处向水势低处移动，即从溶液进入细胞。

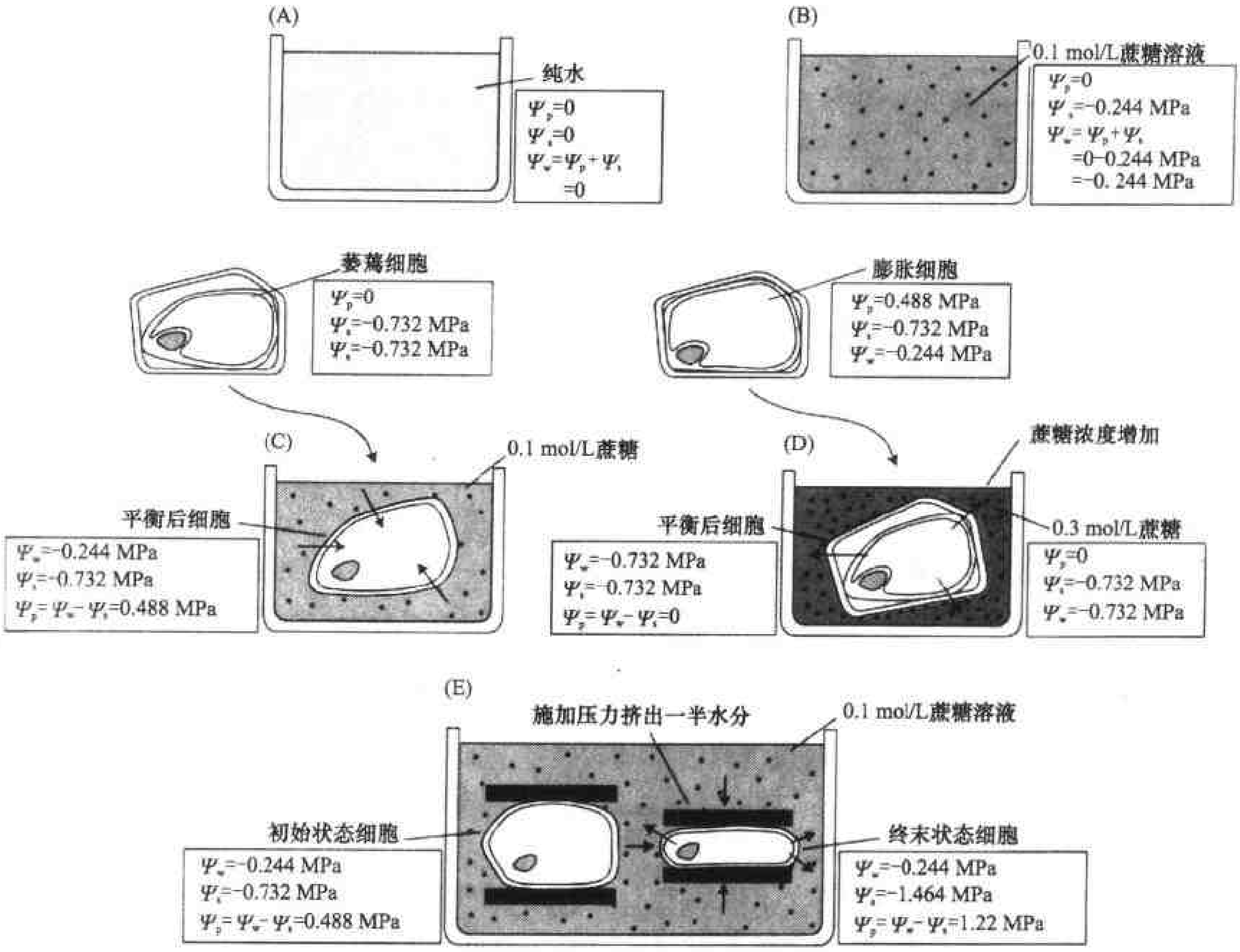



图 2-2　水势和水势的组成（Taiz & Zeiger　1998）

(A)纯水；(B)0.1mol/L 蔗糖溶液；(C)把萎蔫细胞放入 0.1mol/L 蔗糖溶液后，细胞吸水膨胀，细胞压力势增加，最终细胞内外水势达到平衡；(D)把紧胀细胞放入 0.3mol/L 蔗糖溶液后，细胞失水，细胞压力势降低；(E)对达到平衡的细胞施加压力，细胞失水，渗透势和压力势都增加。

植物细胞体积受到相当坚硬的壁限制，因此只要细胞体积有很少的膨胀就会使细胞的静水压上升。当水分进入细胞使其体积增加时，会压迫细胞壁，而由于细胞壁的相对不可变形性而反作用于细胞质，细胞的静水压或膨压 $\Psi_p$ 就会上升，这样的结果就是细胞内外的水势差减小，当膨压 $\Psi_p$ 上升到一定数值时，就会使细胞内外的水势相等，这时水的运动也就停止了。由于进入细胞的水分体积相对于细胞外溶液体积来说非常小，不会影响溶液的水势，因此，当细胞内外水势达到平衡时，细胞水势＝溶液水势＝ －0.244MPa。如果我们假定细胞壁非常坚硬，则进入细胞的水分就很少，因而对细胞溶质势影响可以忽略，在达到平衡时，溶质势仍然为－0.372MPa，这样我们可以根据公式 $\Psi_w=\Psi_s+\Psi_p$ 得到膨压 $\Psi_p=\Psi_w-\Psi_s=(-0.244)-(-0.732)=0.488$MPa。

当细胞内外水势发生改变时，水也可以沿水势梯度离开细胞。

水可以因溶质势的改变而转移出细胞。例如，如果我们将以上达到平衡后的细胞从溶液中移至另一个溶液，这个溶液含有 0.3mol/L 浓度的蔗糖，因此它的水势为－0.372MPa，由于细胞的水势为－0.244MPa，水就会从水势高的细胞内通过渗透转移到水势低的细胞外溶液，当达到平衡时，细胞内外的水势相等，即细胞水势等于溶液水势，为－0.732MPa，再根据以上公式可以得出膨压 $\Psi_p=0$。

改变细胞的膨压也可以使细胞内的水转移出细胞。例如，如果我们在前述已经达到平衡的细胞上施加外力，提高细胞的膨压，这样细胞内水势会提高，水分就会从细胞向外渗透。如果我们持续加

压至细胞体积减小到原体积的一半，然后保持这样的状态，这时细胞内外水势会达到新的平衡。由于细胞外溶液水势并未发生变化，因此达到平衡时，细胞的水势仍应是$-0.244$MPa，同时由于细胞体积减小一半，因此溶质浓度也提高一倍，这时的溶质势应是原来的2倍，即$-0.732\times2=-1.464$MPa，再根据公式 $\Psi_w=\Psi_s+\Psi_p$ 得到膨压 $\Psi_p=\Psi_w-\Psi_s=(-0.244)-(-1.464)=1.22$MPa。

由于植物细胞具有坚硬的细胞壁，因此，很小的细胞体积和水势的变化都会引起细胞膨压的很大变化，这样的关系可以由 Höfler 图解来表示，在 Höfler 图解中，以细胞的水势 $\Psi_w$、膨压 $\Psi_p$ 和溶质势 $\Psi_s$ 分别对细胞相对体积作图（图 2-3），在图中假定的细胞中，细胞体积变化5%时，水势从0变化到$-1.8$MPa，而这个变化主要是由于膨压的改变造成的，在这里膨压变化了1.5MPa，而溶质势仅变化了0.3MPa。这种变化的幅度取决于细胞壁的刚性，细胞壁越坚硬，曲线的陡度越大，细胞体积变化引起的细胞膨压的变化也就越大，细胞的坚硬度可以由容积弹性模量（volumetric elastic modulus）来量度，以下式表示：

$$\varepsilon=\frac{\Delta\Psi_p}{\Delta V/V} \qquad (2.9)$$

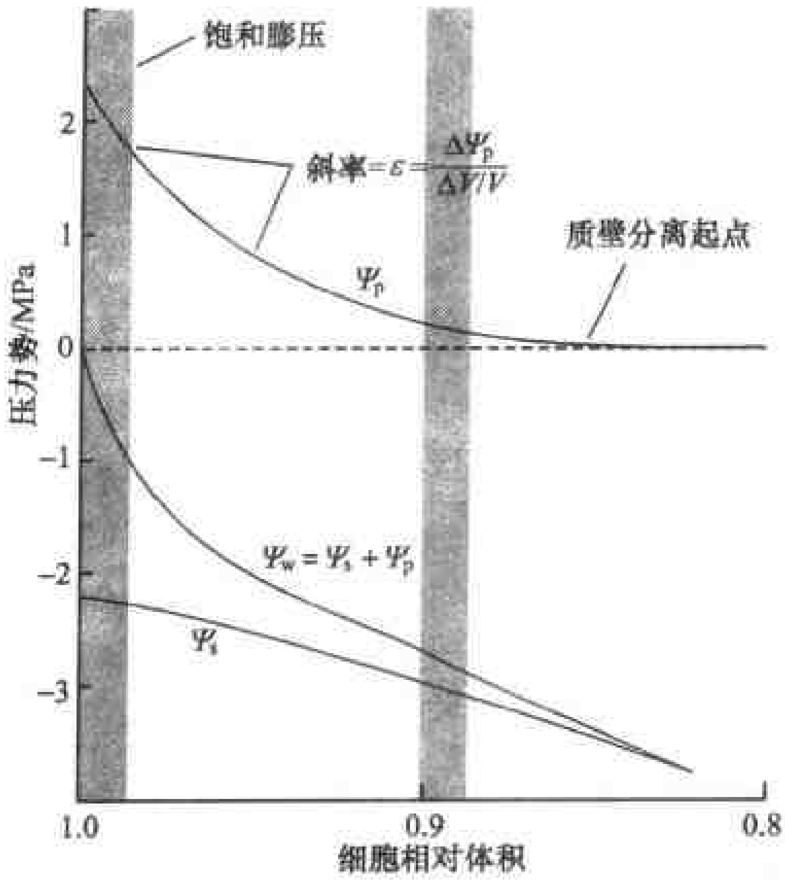



图 2-3 改进的 Höfler 图（Taiz & Zeiger 1998）
细胞体积最初发生改变时，细胞水势的改变主要是膨压的改变，而细胞的渗透势改变较小；当细胞相对体积降低到90%以下时，细胞水势的改变主要由渗透势决定。细胞膨压变化曲线的斜率是细胞壁的容积弹性模量 $\varepsilon$。

其中 $\Delta\Psi_p$ 为膨压改变值，$\Delta V/V$ 为细胞相对变化体积，容积弹性模量 $\varepsilon$ 用压力单位表示。假设 $\varepsilon$ 为10MPa，以上式计算，当细胞体积改变1%时，细胞膨压变化为0.1MPa，对于典型的具有1MPa膨压的细胞来说，相当于膨压变化了10%，而此时细胞溶液势仅增加了1%。因此，当细胞吸水时水势的增加主要是由于膨压增加所致。当细胞体积减少到细胞体积的10%～15%时，细胞的膨压就降至零（对于细胞壁弹性较大的细胞，如保卫细胞，这一体积可能会大得多）。$\varepsilon$ 并非常数，当细胞体积变小时，该值也减小，当 $\varepsilon$ 和膨压很小时，细胞水势的变化主要是由溶质数量的改变来决定的。

## （二）植物细胞的吸水

前面我们已经谈及，当植物细胞置于水势高于细胞水势的溶液时，水会顺水势梯度向细胞内运动直至细胞内外的水势达到平衡。植物细胞的吸水首先是由于其溶质势的改变而引起的。植物细胞可以通过代谢改变自身的溶质浓度，从而降低细胞水势使外界的水进入细胞。植物细胞膨压改变也可能是细胞吸水的原因，例如当细胞发生水分的散失，细胞原生质体积变小膨压因而下降，细胞的水势也随之下降使外界水进入细胞。在风干的种子中，细胞原生质处于凝胶状态，大部分水为束缚水，压力势为零，它们的水势就是衬质势。由于干种子具有非常低的衬质势，例如苍耳种子的水势约为$-100$MPa，因此它们具有极强的吸水能力。未形成液泡的植物幼嫩细胞能够利用构成细胞壁的果胶和纤维素以及细胞中的蛋白质亲水胶体对水的吸附力吸收水分。这种利用亲水表面进行吸水的现象称为水合（hydration）或者吸胀作用（imbibition）。

如果将植物细胞放置在水势低于细胞水势的溶液中，细胞内的水分会向外渗透。这样细胞的体积将逐渐缩小，如果细胞持续失水，由于细胞壁的相对刚性而无法随之缩小，因此细胞原生质体将和细胞壁分离。当细胞原生质刚开始在细胞角隅处与细胞壁发生分离时，称为初始质壁分离（initial

plasmolysis)。如果细胞进一步失水，原生质收缩成团，与细胞壁完全分离，这一现象称作质壁分离(plasmolysis)。此时细胞的膨压为零。如果将已发生质壁分离的细胞重新放入水势较高的溶液或纯水，水又会重新进入细胞，原生质体随之扩大，最后又重新紧贴细胞壁，这种现象称为质壁分离复原(deplasmolysis)。

## (三) 植物细胞水势的测定

细胞的生长，光合作用，以及作物的产量都和植物细胞的水势状况密切相关。因此，植物生理学家们发展了多种方法，对植物组织和细胞的水势进行测量。

**1. 干湿球温度计**

当水溶液的水势降低时水的蒸气压就会降低，这是稀溶液的依数性特性之一，而水从一个表面的蒸发会降低这个表面的温度。用干湿球温度计(psychrometer)测量溶液或植物组织水势就是基于这样的现象和原理(图 2-4)。

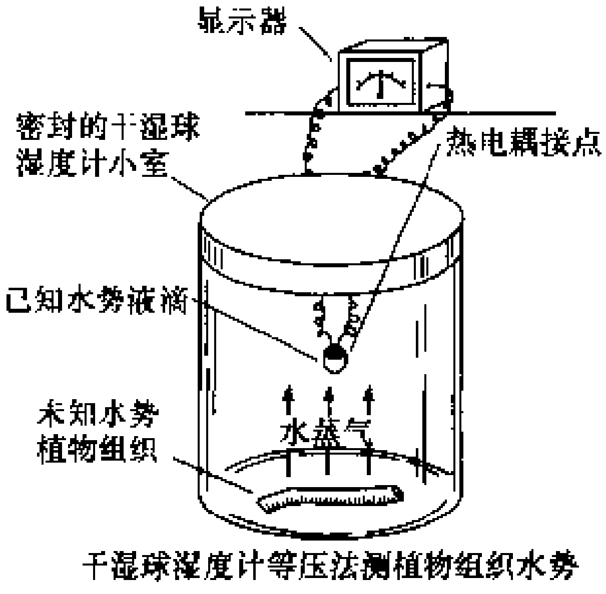



图 2-4 植物组织水势测定的等压干湿球湿度计法 (Taiz & Zeiger 1998)

如果将待测量的植物材料放置于一个密闭小容器中，在容器中装置一个温度传感器，并使该温度传感器与一小滴水接触。开始时水会同时从植物材料和水滴蒸发，并逐步使容器中的水蒸气饱和，这时，如果植物材料和水滴的温度与周边空气的温度相同，而且植物组织具有较低的水势，那么水滴的水就会继续蒸发，扩散并被植物组织吸收，这个蒸发过程会降低水滴的温度，植物材料和水滴间水势差越大，水分的转移就越快，水滴的降温也就越大。如果不是将纯水水滴置于温度传感器，而是用已知溶质浓度的溶液滴与温度传感器接触，当该溶液的水势低于植物材料，水将从植物材料转移到溶液滴上来，因而使液滴的温度上升。如果植物材料与液滴水势完全相同，液滴的温度降则为零。这样，测量一系列已知溶质浓度的溶液，就可能找到与植物材料水势相同的溶液。

干湿温度计法可以用于对分离组织或整体植株水势的测量，也可以对溶液水势进行测量。对溶液来说，由于压力势 $\Psi_p=0$，因此 $\Psi_w=\Psi_s$，即溶液的水势等于溶质势。如果首先用此方法测量出活组织的水势，然后破碎该组织取得细胞汁液，再用该方法测量细胞汁液的溶质势，就可以根据 $\Psi_p=\Psi_w-\Psi_s$ 进一步推算得到膨压值。

干湿温度计法对温度的变动非常敏感，例如，0.01℃的温度差即相当于 0.1MPa 的水势变动，而一般测量需要分辨率达到 0.01MPa。因此，测量装置必须放置在严格控制的恒温条件下。

**2. 压力室法**

压力室法(pressure bomb)可以较快速地对植物组织，如叶片、茎的水势进行测量。压力室法的测量是基于这样的考虑，即认为在测量条件下木质部溶液的水势是和植物组织的水势相近的，因此只要测量出木质部溶液的压力势和溶质势，并根据计算得到木质部溶液的水势即可得到植物组织的水势。

测量时，把待测量的植物器官从植物体上分离下来，部分密封在一个压力室内(图 2-5)。在器官被切下来之前，木质部中的水柱是处于负张力状态，当切下器官后，由于木质部中断，张力被破坏，木质部水柱会缩进组织内，这时叶柄端或茎端的表面会变得干燥暗涩，在压力室中逐渐增加空气压力，可以使植物器官内木质部水柱重新返回叶柄或茎的端部，因而端口细胞重新变得湿润发亮。刚好使木质部水柱返回端口的压力称为平衡压力(balance pressure)，这个压力的值可以很方便地从压力室的压力表上读取。平衡压力与植物器官在切割分离之前木质部中的压力在数值上是相等的(但符号相反)。再进一步测定木质部溶液的溶质势，即可计算得到木质部的水势，而这个水势与植物组织的

水势是相近的。

在许多室外的植物中，木质部的压力势在$-1\sim-2$MPa之间，而溶质势仅在$-0.05\sim-0.2$MPa之间，因此，在许多情况下可以大略将压力室所测定的值作为所测材料的水势值。由于压力室法可以快速地对水势进行测量，并不需要严格控制测量条件，因此，在田间测量中得到广泛应用。

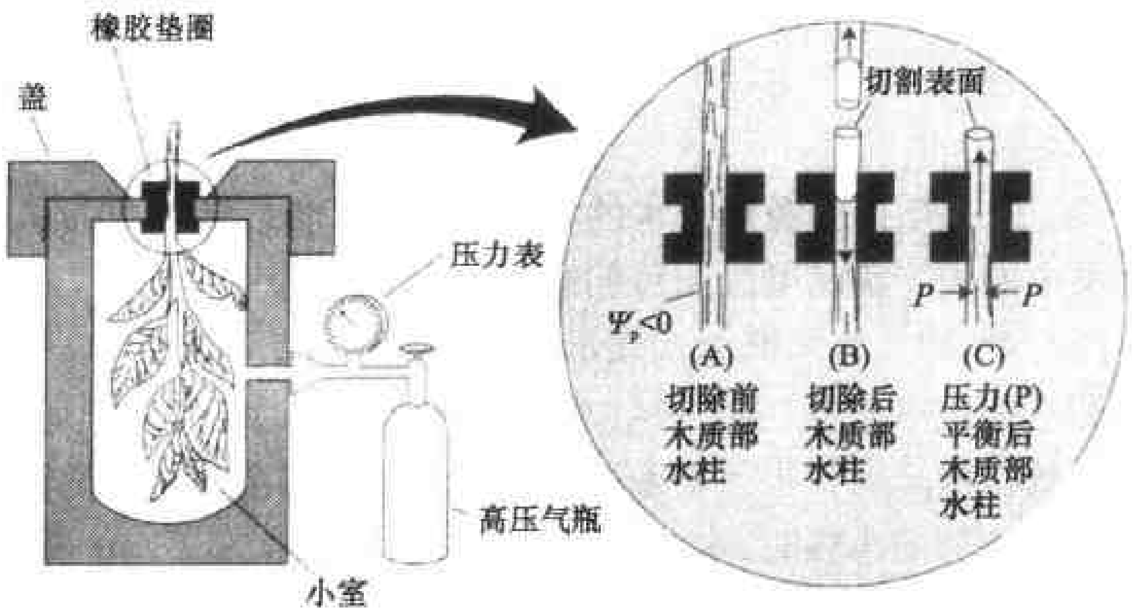



图 2-5 利用压力室法测定植物组织水势的示意图
（Taiz & Zeiger 1998）
左图为装置示意图；右图示植物茎导管中的水柱状态，(A)在植物茎切割前，水柱是连续的，处于负压状态；(B)切割后，水柱在负压作用下缩进植物茎内；(C)在压力室正压力的作用下，水柱回到切割表面。

**3. 冰点下降法**

当溶液中溶质浓度上升时，溶液的冰点会下降，这也是溶液的依数性质之一，例如纯水的冰点是0℃，在1kg纯水中加入1mol溶质时，溶液冰点下降到$-1.86$℃。因此，可以通过测量溶液的冰点来测量溶液的渗透势。

冰点下降法测定的装置有许多，冰点渗透计是较常用的一种。冰点渗透计有一个控温的平台，平台上有一些装着油的小池，平台为银制，使其具有较高的导热性。测量时，将样品液滴悬浮置于油中，以避免蒸发。然后将平台的温度迅速降低到约$-30$℃使液滴冻结，然后再使平台温度缓慢上升，液滴的融化过程通过显微镜进行观察。当液滴中水刚刚完全融化时的温度被记录下来，这个融解的温度即冰点温度。由冰点温度可以计算得到溶质浓度，再由范德霍方程式计算得到渗透势。用冰点渗透压计可以测量小至1nL($10^{-9}$L)体积的溶液的冰点。这样小的测量体积使我们有可能对单个细胞液进行测量，同时也使液滴与控温平台的温度能够迅速地达到平衡。

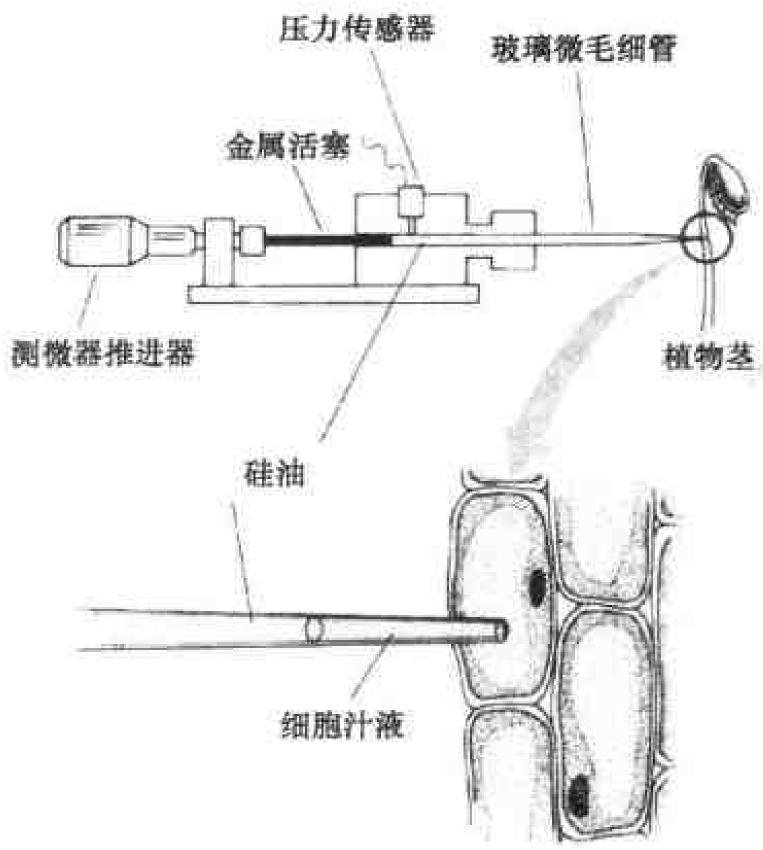



图 2-6 利用压力探针法测定植物细胞水势的示意图（Taiz & Zeiger 1998）

**4. 压力探针**

由于植物细胞的体积很小，直接对其膨压进行测量是相当困难的工作，用于高等植物细胞的压力探针法(pressure probe)是近年发展起来的对植物细胞膨压进行直接测量的方法(图 2-6)。

压力探针法是将一个尖端非常尖细的玻璃毛细管刺入细胞，细胞液会由于膨压而进入玻璃毛细管，在玻璃毛细管中充满着硅油，细胞液和硅油的界面在显微镜下很容易看清楚，这时推动活塞，增加压力使细胞液重新退回到细胞。使细胞液刚好完全返回细胞的压力即平衡压力，平衡压力与细胞的膨压相等。平衡压力可以由装置中安置的压力传感器来测定，这样就完成了对单细胞膨压的测量。

压力探针的方法虽然已经用于对许多类型高等植物细胞的膨压进行测量，但是对于许多体积较小的植物细胞的膨压仍然难以进行测量。

# 小　　结

水是生命的源泉。水的特殊物理化学特性使其成为进行各种生命活动的最好介质。水在不同体系中的内能状况可以用每偏摩尔体积的水的化学势差，或者体系中的水与纯水之间每单位体积的自由能差，即水势的概念来表示。水总是从水势高的地点向水势低的地点转移。一般来说，植物细胞中的水势由溶质势、压力势（或膨压）和衬质势组成。水的运动包括扩散和集流，渗透是水跨半透膜的特殊的扩散运动。当植物细胞的水势低于外界溶液的水势时，水向细胞内运动；当植物细胞的水势高于外界溶液的水势时，水向细胞外转移。

**思考题**

(1) 水分子的氢键对水的物理化学性质有何重要影响?

(2) 什么是水势? 水势的基本组成有哪些?

(3) 水的基本运动形式有哪些?

(4) 植物细胞的水势有哪些基本组成? 它们对水的进出细胞有何影响?

(5) 测定植物水势、渗透势和膨压的方法有哪些?

# 第三章 植物整体水分平衡

对于植物来说，水具有特别重要的意义。水是植物进行光合作用所必不可少的，因为光合作用就是利用光能同化水和二氧化碳形成有机物的过程。此外，植物在进行光合作用的过程中需要从空气中吸收二氧化碳，在吸收二氧化碳的同时不可避免地要散失水分。植物体在一生中需要不断地吸收和散失水，这种水的吸收和散失过程对于植物是必需的。植物体每生产 1g 的有机物质大约要消耗 500g 的水，一生中大约要散失掉自身重量一百倍的水分。植物，特别是陆生植物需要精确地平衡水分吸收和散失之间的关系。任何水分关系的失衡都会影响植物的生长和发育，甚至威胁植物的生存。

在夏季炎热干燥的条件下，叶片每小时散失的水分相当于自身所含的全部水分。植物体通过这种蒸发过程将光照带来的多余能量消耗掉，避免了温度升高的伤害。在典型的条件下，叶片吸收的光照能量大约有一半要通过这样的方式被消耗掉。

植物体一方面经过叶片不断地散失水，一方面又通过根系不断地吸收水，这样就形成了水由下而上的不断流动。植物根系所吸收的各种矿质元素就是经由这样的水的流动被带到叶片和其他地上部分的。

在农业生产中，水往往是产量的制约因素，因此作物灌溉也是提高产量的重要措施。水在维持植物的生态环境中亦有重要的作用，例如对土壤和大气的温度调节，在作物栽培中常以冬灌提高冬小麦的抗寒性。

## 第一节 水分吸收

### 一、土壤中水分的状态

植物通过根系从土壤中吸收水，因此土壤中水分的状态直接影响植物对水的吸收。

一般来说，土壤中的含水量越高，可供植物吸收的水分也就越多。不同土壤的保持水分能力是不同的，土壤持水力(field capacity)是指使土壤水分饱和然后再让多余水分流失之后的土壤水分含量。因此土壤持水力表示了该土壤所能够持有的最高水分含量。但是土壤中所持有的水分并不都是能被植物所吸收的。例如在盐碱土中的大部分水分都不能为植物所利用。

我们在第二章中已经了解了水势的概念。水的运动通常总是从高水势的地点转移到低水势的地点，植物从土壤中吸收水也可以认为是水从高水势的土壤向低水势的植物根转移的过程。因此用水势衡量土壤中的水分也许能够更好地说明土壤中可供植物吸收的水分状况。土壤水势也如同细胞水势一样主要由溶质势和压力势组成。在大多数情况下土壤中溶质的含量很低，因此土壤的溶质势通常也非常高(数值很小)，溶质势的数值常在－0.02MPa，常可忽略。但是在盐碱的土壤中，溶液中含有相当高数量的溶质，溶质势可达－0.2MPa。对于湿润的土壤，土壤水的压力势 $\Psi_p$接近于零。但是当土壤变得干燥时 $\Psi_p$就会下降。这是因为当土壤逐渐干燥时，水会附着在土壤颗粒的表面形成一薄层水层，由于土壤颗粒表面的凹凸不平，水层的表面也是凹凸不平的，这种凹凸不平的表面会由于水的表面张力产生很大的负压。例如当表面曲率半径为 1$\mu$m 时，可以产生－0.15MPa 的压力，而当土壤非常干燥形成很小的水层表面曲率半径时，产生的压力可以达到－1MPa 到－2MPa。这时通常用衬质势来代替水势。根据以上的分析，在一般的湿润土壤的条件下，土壤的水势接近纯水的水势。

根据土壤和植物根的水势，我们可以判断植物是否能够从土壤中吸收水。当土壤水势高于植物

根水势时，植物能够从土壤吸水，而当土壤水势低于植物根水势时，植物则不能从土壤吸收水。当然在大多数情况下，土壤的水势是高于植物根水势的。土壤和植物根之间的水势差在很大程度上也影响着植物对水的吸收速率，因为土壤和植物根间水分的运动速率是和它们的水势差相关的。

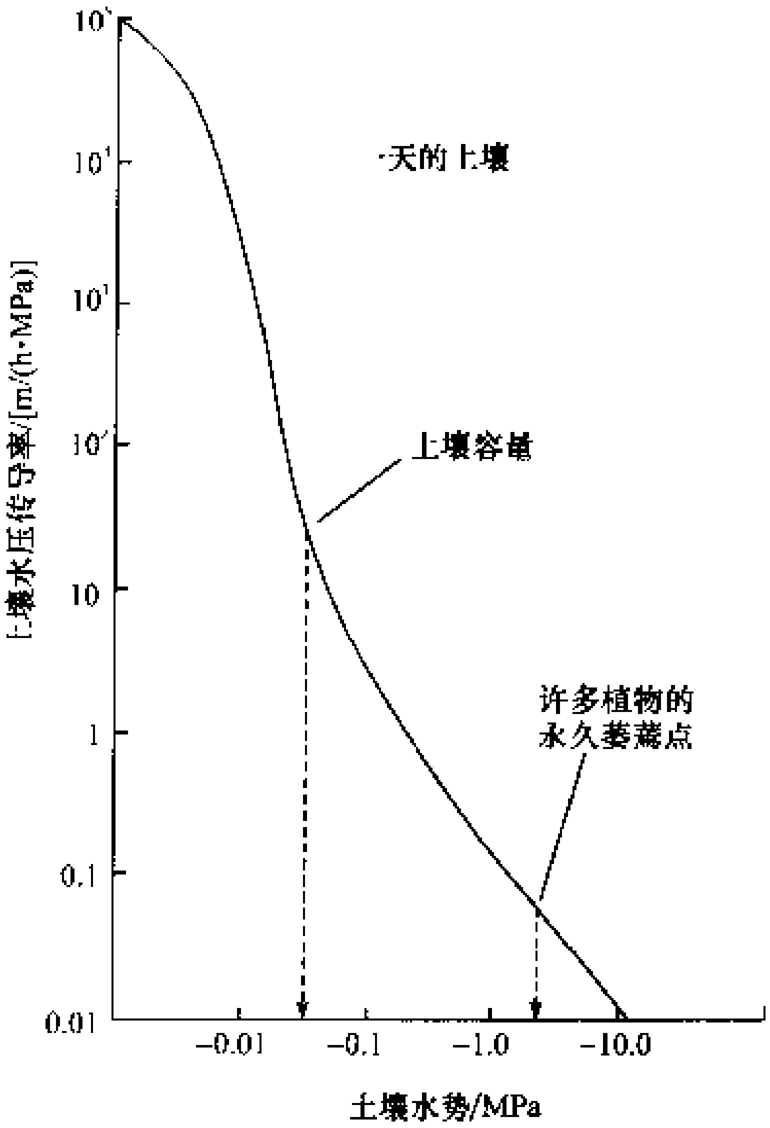



图 3-1　土壤的水导和土壤水势的关系
(Taiz & Zeiger　1998)

土壤中水的状况是否有利于植物吸收除了取决于土壤的水势外，还和土壤中水的运动有关。水在土壤中的运动主要是以集流的形式沿水势梯度进行。当根从土壤吸收水时首先会吸收掉根表面与土壤结触部位的水，因而引起根表面静水压的下降，这样就形成了根表面和附近土壤间的水势梯度。由于在湿润土壤中，土壤颗粒间充满水并在其间形成彼此相通的微细管道，水会沿此压力梯度形成集流通过这些管道运动到根的表面。这种水流的速率取决于压力梯度和土壤的水导(图 3-1)。土壤的水导和土壤的类型是有关的，例如沙土与颗粒间空隙较大因而具有较高的水导，而黏土的颗粒间隙较小因而具有较低的水导。除此之外，土壤水导与土壤水势也有关系，当土壤水势下降时，土壤的水导以对数级迅速下降。因此，土壤中溶质增加或水分减少等引起土壤水势的下降的因素都会使土壤水导降低。土壤水分减少引起土壤水导下降的原因还在于当水分减少时水无法充满土壤颗粒间隙，土壤颗粒间的管道由于被充入空气而使水流中断，这时水只能沿土壤颗粒表面流动，水导因而降低。因此当土壤水势降低时，植物对水的吸收速率也会降低。

由于植物在吸收水的同时也在散失水(如蒸腾)，当土壤的水势低于某一数值时，这种水的吸收和散失就不能平衡，散失的水分将多于吸收的水分，植物将失去膨压而发生萎蔫。此时若减少水的散失，水分又可达到新的平衡，因此植物膨压恢复，萎蔫现象消失。如果植物即使完全不发生水分的丧失但植物的萎蔫仍然不能恢复，引起该现象的土壤水势称为永久萎蔫点(permanent wilting point)，如果用水分的百分比表示则称永久萎蔫百分比(permanent wilting percentage)。发生永久萎蔫时，土壤水势等于或低于植物根的水势，因此植物无法吸收水。由于植物的水势并非固定值，因此土壤永久萎蔫点也随植物种类而变化。在土壤持水力与永久萎蔫点之间的土壤中水的含量被认为是有效水(available water)的含量。

## 二、根的吸水

根系是植物吸收水的主要器官。虽然土壤的水分状况对植物的水分吸收有重要的影响，但是整体植物的水分平衡维持更多地依赖于植物根吸水的能力。如前所述，植物一生要散失大量的水分以满足其生理的需要，特别是在炎热的气候条件下，植物散失水分的速率是很高的，因此植物的根必须有大量吸收水的能力以维持整体植物的水分平衡。植物根与土壤间的接触面积的大小和紧密程度对于根系的吸水是非常重要的。植物通过大量的根系生长以扩大根与土壤间的接触面。一株植物的根在土壤中的分枝有千百万，据报道一株黑麦的根系每天总增长量可达 3.1m。根毛的生长也是植物扩大其根与土壤接触面的重要方式。根毛是根表皮细胞的延伸，根毛可以极大地扩大根系的面积，例如据统计生长 4 个月的黑麦的根毛的面积可达其根总面积的 60%以上，其根和根毛的总长度可超过

10 000km，总面积约为茎、叶总面积的130倍。根系与土壤间接触面积的增加大大加强了根系吸收水分和矿质的能力。

## （一）根吸水的部位

虽然植物的根系有很长的长度和很大的面积，但是根吸收水的部位主要是在根的顶端部分（图3-2）。根顶端的幼嫩部分包括分生区、伸长区和根毛区。水的吸收主要发生在根毛区和伸长区，特别是根毛区。根毛的生长不仅扩大了根吸收水分的面积，而且使根能够更紧密地接触土壤颗粒，有利水分的吸收。在根毛区水的输导组织已经初步形成，初生木质部已经分化，次生木质部也开始分化，这样根顶端吸收的水就能通过这些输导组织向植物的地上部分顺利运送出去。根毛的寿命很短，一般仅有几天，随着根的不断向前生长，新的根毛又会不断形成。这样根的吸水区就会随根的生长而向富水区不断转移。根的成熟区通常具有保护组织，称为外皮层（exodermis或hypodermis），其中含有疏水物质，对水的通透性较低。

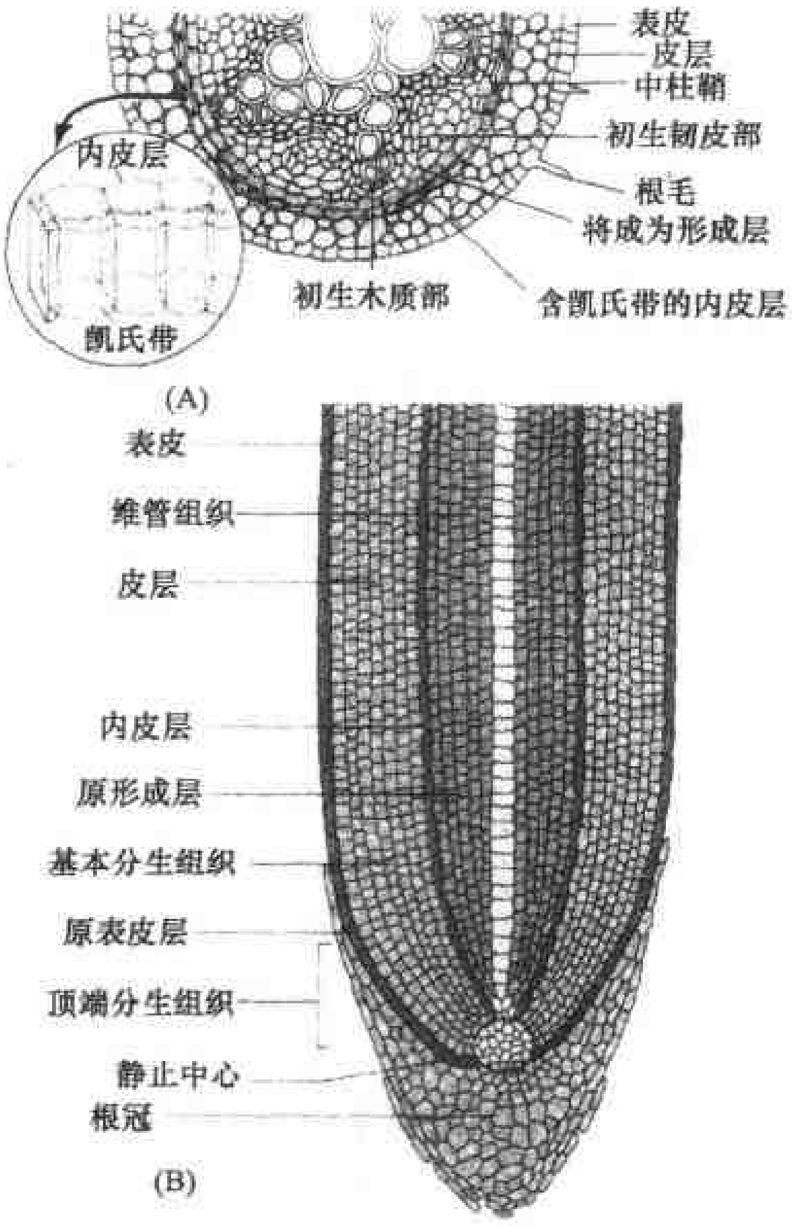



图3-2　草本双子叶植物幼根结构示意图

（Salisbury & Ross　1992）

（A）根顶端根毛区部分横切示意图；

（B）根顶端部分纵切示意图。

虽然根的顶端是水的主要吸收部位，但是随着蒸腾速率的加快，根顶端的吸水将不能满足蒸腾的需要，在高蒸腾速率时，根上吸水最快的区域也会逐渐从根的端部向根的基部转移。

## （二）水分进入植物的过程

### 1. 根的共质体和质外体

植物根内部可分为共质体（symplast）和质外体（apoplast）两部分。共质体和质外体的概念是由Münch（1930）所提出的，他认为细胞间胞间连丝的存在使细胞的原生质相互连接起来，形成一个原生质的连续体，称为共质体。质外体是水和溶质可以自由扩散移动的自由空间，包括植物细胞壁、细胞间隙及其木质部导管等。我们在以下的分析中将会看到，根的内皮层有凯氏带的存在，由于凯氏带是水不透性的，因此并不把凯氏带部分视为质外体的一部分。水在植物体中的长距离运输几乎完全是在质外体中进行的，特别是木质部的质外体部分，例如导管，此外还有皮层以及叶细胞的细胞壁也是水分运输的重要途径。

### 2. 水进入植物的途径

水从土壤进入植物体内部的途径是相当复杂的。理论上讲，水可以通过两种途径进入植物体内部：首先是质外体的途径，水通过细胞壁和细胞间隙扩散进入植物体内部；其次是共质体途径，水通过胞间连丝从细胞到细胞运动进入植物体内部。当然水也可以通过两种途径交替进行，水从细胞一侧跨膜渗透进入细胞，而后从细胞的另一侧出细胞，并依次跨膜进出细胞最后进入植物体内部。虽然有实验说明在玉米根中质外体的途径可能是主要的，但是现在还不能肯定水是通过什么途径进入植物体内部的。

虽然水径向进入植物体的途径相当复杂，但是我们可以将其简化。在根的内皮层中，水的运动会被凯氏带（Casparian strip）所阻隔（图3-3）。凯氏带是内皮层细胞径向壁上加厚的带，其中富含类似

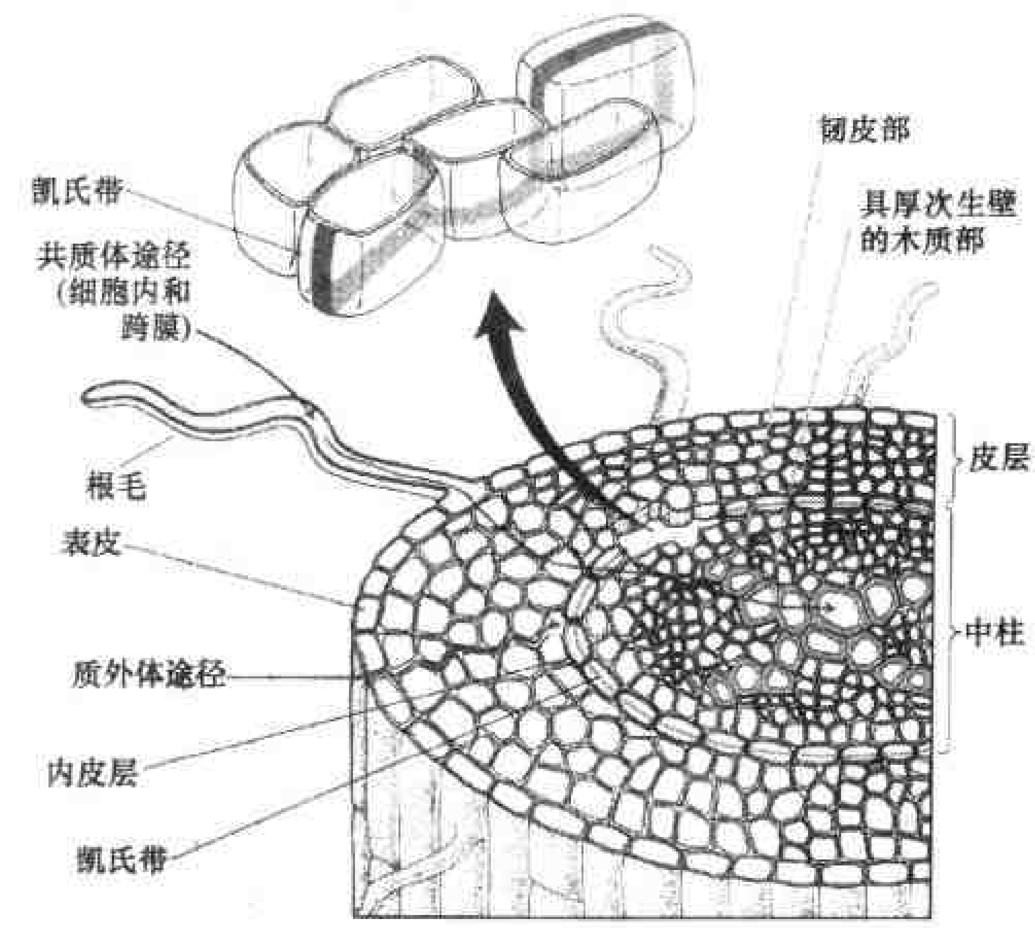



图 3-3 植物根吸收水分途径示意图 (Taiz & Zeiger 1998)
水可以经质外体以及细胞的途径通过外皮层。质外体的途径在凯氏带处被阻断。细胞的途径包括跨细胞膜的途径和共质体途径。在跨膜的水分运动中，水从细胞的一侧跨膜进入细胞然后从细胞的另一侧跨膜出细胞，如此交替进入内皮层。在共质体途径中，水经胞间连丝在细胞间运动，最后进入内皮层。

蜡质的木栓质(suberin)。木栓化的凯氏带形成了水和溶质难以逾越的屏障，因此根的质外体在此是不连续的，可分为内皮层以外和内皮层以内两部分，而把内皮层假设为是一层“膜”，当“膜”的两侧有水势差时就会发生水的运动。由于水径向从根毛到木质部假设为只经过一层“膜”，因而只具有一个根水导(root hydraulic conductance)$L_{root}$，可以下式表示：

$$L_{root} = \frac{J_v}{\Delta\Psi_w} \qquad (3.1)$$

其中 $J_v$ 为水的跨根运动速率，$\Delta\Psi_w$ 为径向的跨根水势梯度。

根的水导并非是恒定值，它随水跨根的运动速率和跨根水势建立的方式不同而不同。这是因为水跨根运动并非真正是经过一层膜，压力梯度和渗透势梯度对水的运动都有推动作用，而压力梯度对水的运动比渗透势梯度更为有效。而当水的运动由压力梯度或者渗透势梯度所驱动时所采用的机制和途径是不同的。

根导与植物根系的呼吸有很大的关系。用呼吸抑制剂处理根或使之处于低温或缺氧的条件，降低根的呼吸水平，就会引起根的水导下降，因而使水分运输减少。其中的确切机理目前还不清楚。也许是使水通道失活或者影响了其他与水跨根运输相关的过程。

不同植物对温度的敏感程度不同，喜温的植物如黄瓜当土温降到 10℃以下时，吸水就会明显减少；而冬小麦在土温近 0℃时，仍然有一定的吸水能力。在实践中，也需要避免在高温气候条件下用冷水灌溉植物，这样往往会引起植物的萎蔫。

土壤通气状况对植物的根系吸水也有重要影响。例如在水涝的情况下，植物会发生萎蔫。这是由于在水涝的条件下植物根系会缺氧，呼吸水平下降，因此根的水导也会下降，从而造成水分供应不足引起植物萎蔫。当然不同的植物对土壤中氧气条件的需求是不同的。一些植物，如番茄、烟草等在土壤被水分饱和时容易缺氧而发生萎蔫；而另一些植物，如水稻、芦苇等在水分饱和的土壤中可以正常生长，这是由于这些水生植物在根部有较大的气腔，与茎叶的气腔相互贯通，可以贮存氧气。

# 第二节 水在植物体内的运输

在大多数植物中，木质部(xylem)是植物体内进行水分运输的主要途径。

## 一、木质部结构

维管束是植物中进行长距离运输的输导组织。维管束由木质部和韧皮部组成。木质部是水分运输的主要通道。木质部通常包括管胞(tracheid)、导管分子(vessel element)，木质部薄壁细胞(xylem parenchyma)以及纤维(fiber)四种细胞，其中只有木质部薄壁细胞是生活细胞。

木质部中输导水分的细胞具有非常特化的结构，这样的结构使它们可以极为有效地运输大量的水分。木质部中的输导细胞也称为管分子(tracheary element)，主要有管胞和导管分子两类(图 3-4)。导管分子存在于被子植物和某些裸子植物(Gnetales)中，管胞则在被子植物和裸子植物中都存在。有功能的管胞和导管分子都是死的组织，它们没有膜和细胞器，就像中空的管子，壁通常被木质化而加强。

管胞是伸长的纺锤形的细胞，其侧壁有许多小凹坑作为相邻管胞间的通道，称为纹孔。纹孔是管胞壁上多孔的微小区域，不具次生壁，初生壁也较薄。两相邻管胞间的纹孔常成对形成，因此也称为纹孔对(pit pair)。纹孔对是相邻管胞间水分转移的低阻通道，其间包括两层初生壁以及中间的一薄层纹孔膜(pit membrane)(图 3-5)。裸子植物管胞的纹孔膜中央常有一加厚部位称为纹孔塞(torus)。纹孔塞如同一个阀门，当放入边缘加厚的圆形或椭圆形的纹孔中就会关闭纹孔，这对于防止气泡的进入是很重要的。

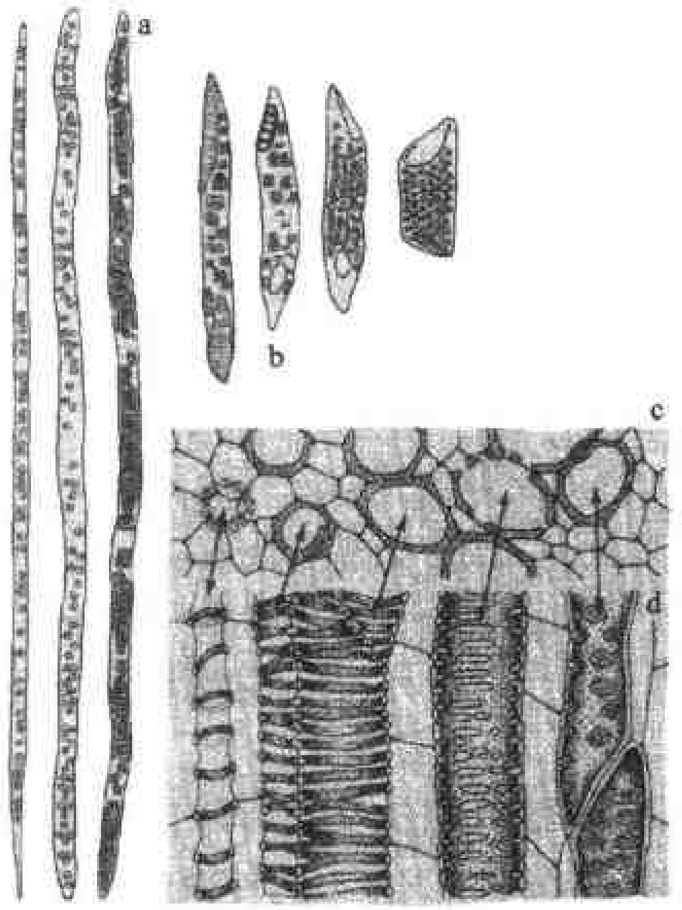



图 3-4 导管和管胞的结构 (Taiz & Zeiger 1998)
a. 管胞；b. 导管分子；c. 木质部导管分子横切示意图；
d. 木质部导管分子纵切示意图。

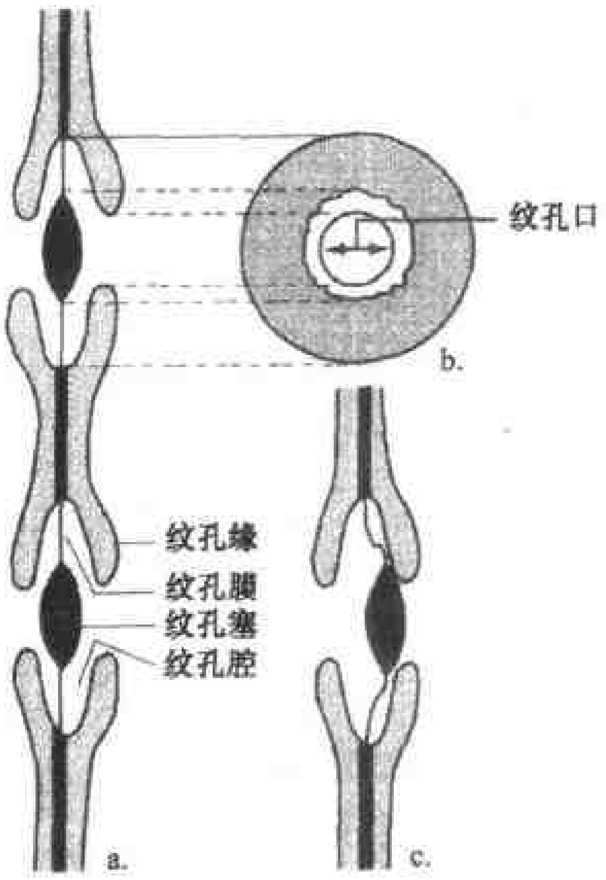



图 3-5 纹孔对结构示意图 (Taiz & Zeiger 1998)
a. 纵切；b. 横切；
c. 纹孔塞堵塞住纹孔。

导管分子比起管胞来要短一些和宽一些，在其两端是穿孔的壁。如同管胞一样，在导管分子的侧壁上也有纹孔。导管分子一个一个连接起来就形成导管(vessel)。植物中的导管可长达数米，位于导管端部的导管分子的顶端是封闭的，导管分子之间也可以通过纹孔进行交流。

## 二、木质部水分运输速率

导管分子间没有膜的阻隔，在木质部中组成毛细管道，形成植物体内水分运输的极为有效的途径。水的运动是被管道两端压力差所驱动的。水在木质部中运动的速率可以达到相当快的程度。水分运输的速率取决于植物的种类和植物蒸腾的速率，对于具有较宽导管(半径为 100～200μm)的树木，最高速率可达 16～45m/h(4～13mm/s)，对于具有较窄导管(半径为 25～75μm)的树木，最高速率可达 1～6m/h(0.3～1.7mm/s)。

要维持一定的水分运输速率，需要有一定的压力梯度。如果按 4mm/s 的速率，管道宽度为 40μm 计算，所需压力梯度约为 0.02MPa/m。当然这样的计算是按理想管道进行计算的，而实际上植物木质部导管中管道的粗细和结构都是非均匀的，因而需要较计算所得数值更大一些的压力梯度。但是

这个数值大致反映了导管中水运输所需的压力范围。如果按照这一数值进行计算，对于许多高大树木来说，运输所需压力是相当大的。例如世界上最高的树——红杉(redwood)高达100m以上，因此运输水从根到顶端所需的压力将高达2MPa，考虑到导管中100米水柱对导管底部所造成的压力约1MPa，因此红杉中水分的向上运输至少需要3MPa的压力。

## 三、木质部水分向上运输的机制

如前所述，水在导管中的运输是靠导管两端的压力差所驱动的。从理论上讲，这个压力差可以是由在根部产生的正压力压迫水向上运动，或者由植物顶端产生的负压力拉动水向上运动。

### （一）根　　压

**1. 根压现象**

当幼苗在茎基部靠近地面的部位切断，可以看到在切面的木质部有液滴流出，液流可持续数小时或更久，这种现象称为伤流(bleeding)。如果将切断部位用橡皮管连接到一个压力计(图3-6)，可以测量到一定的正压力，压力值可以达到0.05～0.5MPa，称之为根压(root pressure)。根压是木质部中的正压力。建立起根压的植物常表现出在其叶片的边缘有水滴渗出，这种现象称为吐水(guttation)。木质部中的水是通过排水孔(hydathole)渗出的，排水孔位于叶缘维管束末端的管胞处。吐水通常发生在湿度较大蒸腾很弱的情况下，如清晨或夜晚。根压在水分状况很好，蒸腾很弱的条件下特别明显。在蒸腾强烈的条件下植物失水很快，木质部中无法建立起正的压力，因而无法形成根压。




图3-6　植物根压测定示意图
(Hopkins　1995)

**2. 根压产生的机理**

在前述章节中，我们已经了解到植物根部可以分为共质体和质外体，由于凯氏带的存在将根的质外体分为内外两个部分，因此我们可以把根假设为具有一层膜的渗透系统。根从土壤溶液中吸收溶质，并通过共质体途径将溶质输送到内皮层的内侧，溶质再进入木质部使木质部中溶质的浓度提高，木质部渗透势因而下降水势也就下降，这样就在内皮层内外建立起吸收水的水势梯度，水沿水势梯度进入木质部并建立起正压力。在这里整个根就像一个渗透细胞，根中各种组织就像一层膜，当木质部积累溶质时水就进入木质部建立起正的静水压，即根压。这个静水压力就会推动水向上运输。

由于在根建立正压力的过程中有水的吸收，而水的吸收又需要根系对溶质的吸收以及木质部溶质被释放进入导管等生理过程，因此这类因根系代谢活动而引起根系从环境中吸水的过程又称为主动吸水。

但是根压所产生的压力通常小于0.1MPa，而且只是在蒸腾速率较低时才会产生，当蒸腾速率较高时便会消失。因此对于较高大的植株，这样的水分运输机制显然是不够充分的。

### （二）内聚力-张力学说

另一可能的机制是，植物在顶部的蒸腾作用会产生很大的负静水压，这个负压可以将导管的水柱向上拖动形成水分的向上运输。这一假说也称为内聚力-张力学说(cohesion-tension theory)。对于内聚力-张力学来说，有两个问题需要解决：首先，导管中的水柱是否确实承受着很大的负压将水拉动向上运输；再者，这个向上的水柱的完整性是如何维持的。

如果在正在蒸腾的植株的茎表面滴上墨汁，然后刺破木质部，可以看到墨汁立刻被吸入木质部，

表明在木质部确实存在负压。如果仔细地测量树木的直径，可以发现当快速蒸腾时，树木的直径变小了，这是因为大气压力和导管负压间的压力差使导管变细的缘故。用压力室方法可以对木质部压力进行直接的精确测量。测量的结果表明在导管中确实存在负的压力。对于正在快速蒸腾的温带树木，这个负压的范围在－0.5～－2.5MPa。并且，树冠顶部的负压比树木基部的负压更负。由于木质部内部的负压，导管分子和管胞的外壁将承受一定的压力，如果它们的细胞壁不够牢固，大气压力会将它们压破或压扁。事实上，导管分子和管胞的壁都被加厚并木质化以适应木质部在水分运输时所处的负压状态。这些研究结果都充分支持了内聚力-张力学说。目前大多数研究者都认为内聚力-张力学说是正确的。

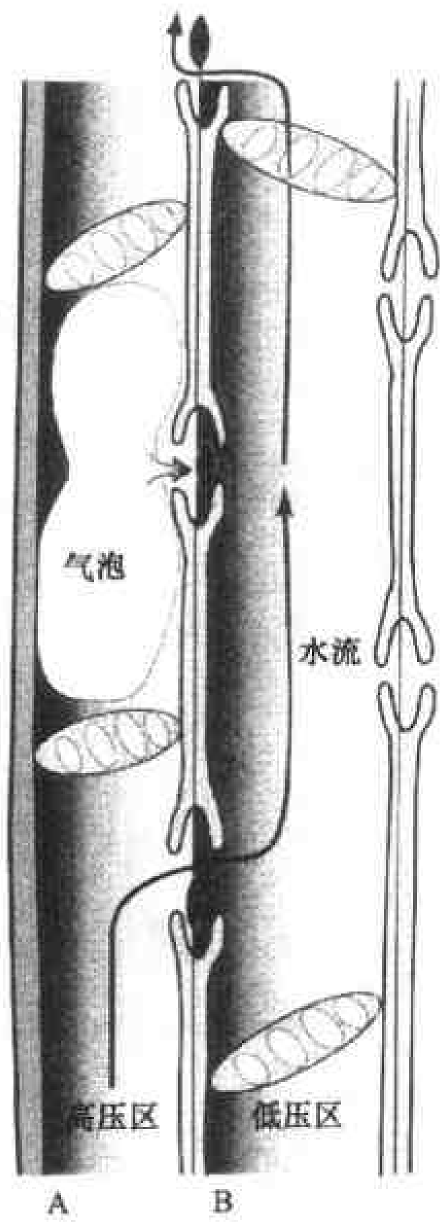



图 3-7　木质部导管分子或管胞中形成气泡时的水分运输示意图（Hopkins　1995）

当发生栓塞时，气泡被封闭在受阻的导管或管胞中（A）；而水可以通过侧壁上的纹孔进入其他导管或管胞（B）。

关于导管中维持水柱完整性的问题，我们在第二章中已经讨论过，水分子间具有很强的内聚力，水柱可以抵抗－30MPa的张力，远远高于植物木质部可能具有的负压。

当导管中水处于负压时，一个重要问题是溶解在水中的气体会从水中释放出来，而且空气从侧壁纹孔进入导管或管胞的可能性也增加。一旦空气进入，导管或管胞中就会形成空穴或小气泡，称之为空穴化（cavitation）。大的气泡会堵塞管道，称为栓塞（embolism）。空气不能抵抗张力，因此如果导管或管胞中形成栓塞，水柱的连续性就会遭到破坏，水分的向上运输便会中断。在植物木质部中空穴化的现象并非偶然现象。研究者利用在木质部的空穴快速形成和扩张时会造成高频声波的现象，将超声探测器放置于植株的茎部，探测器所探测到的咔哒声就能显示出木质部的空穴化过程。植物在冬季发生结冰时，导管也经常发生栓塞。

木质部的空穴化如果不能恢复，植物的水分运输就会中止而植物体就会因缺水而死亡。植物可以通过若干途径避免木质部空穴化和栓塞的影响。当木质部的导管分子或管胞中形成气泡时，气泡的扩张会被阻挡在导管分子和管胞的两端，这是因为空气难以通过纹孔膜，而水却可以通过侧壁的纹孔对进入相邻的导管或管胞（图 3-7）。而且，当夜晚蒸腾很弱时木质部的负压会消失，甚至形成根压产生正压力，导管或管胞中的气泡会缩小以至消失。另外，在许多植物中会生成新的有功能的木质部以取代被空气或其他分泌物闭塞的导管。例如，树木在春季蒸腾逐渐恢复时，就可能生成新的导管以取代在冬季发生栓塞的导管。

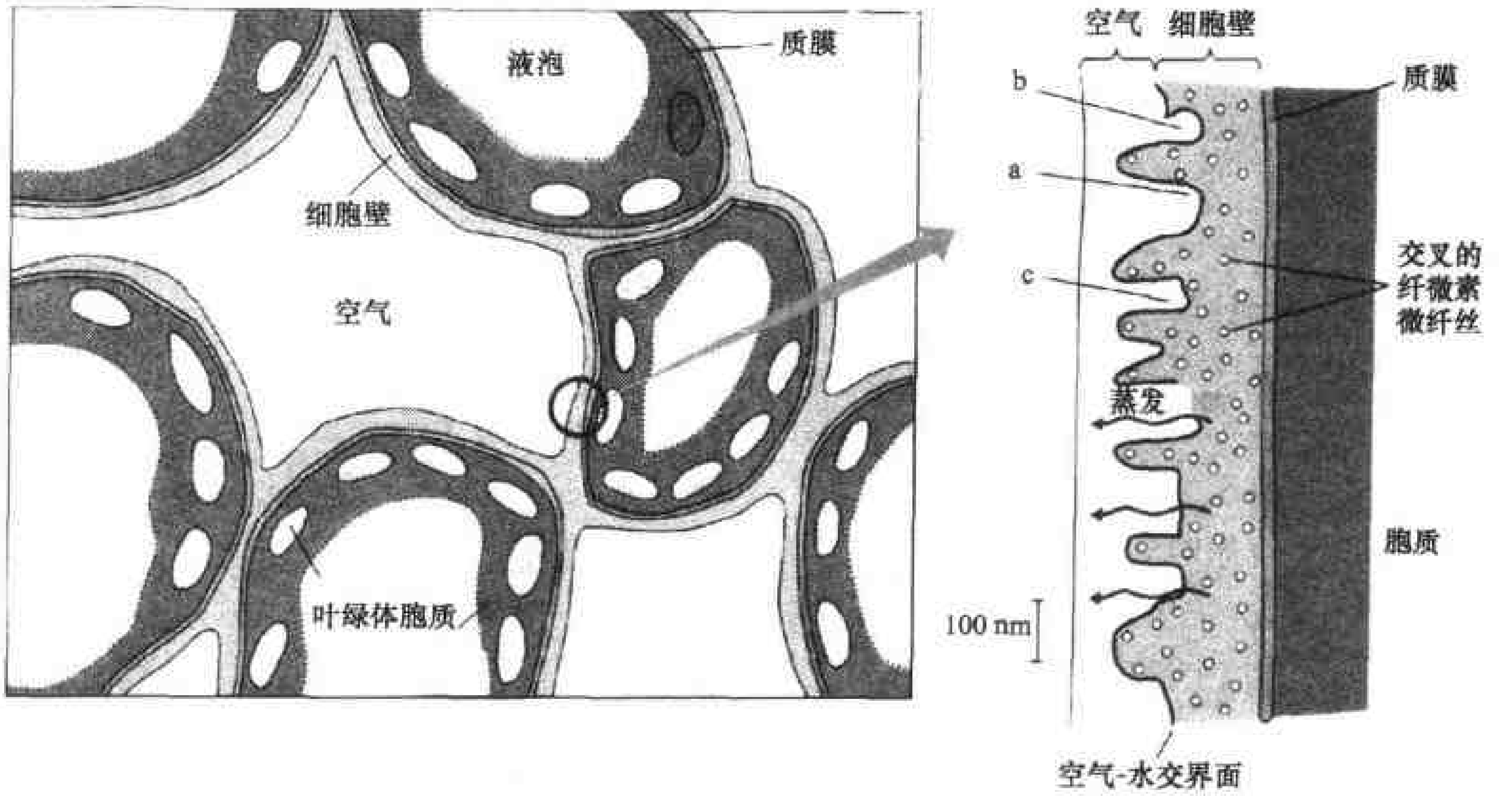
# 第三节　蒸腾作用

## 一、蒸腾作用的概念

水从植物地上部分以水蒸气状态向外界散失的过程称为蒸腾作用（transpiration）。

进行强烈蒸腾的叶片在1小时内就可散失相当其全部重量的水分，因此如果不能及时得到水分的补充的话，植物叶片会很快萎蔫死亡。在植物体中水是通过维管束的木质部由根输送到叶片。维管束在叶片中组成遍布全叶的脉络结构称为叶脉，叶脉的终端——小叶脉（minor vein）延伸到叶片的各个部位，在典型的叶片中任何细胞距离小叶脉不会超过0.5mm。水沿叶脉最终运输到叶肉细胞和细胞壁。木质部在叶端的负压是在叶肉细胞的细胞壁产生的。细胞壁的微纤丝和其他亲水物质组成一个多微孔道的结构，其中可以含有大量的水分。叶肉细胞间有大量的细胞间隙并与空气直接接触。

当水分在叶肉细胞的间隙表面蒸发时，细胞表面的水层会变薄并退入细胞壁的裂隙，在那里形成曲率半径很小的半月板形水层表面，因而产生很大的张力或负的静水压。水分蒸发越多，产生的半月板形水层表面就越多，水的静水压就越负，这样就形成了木质部拉动水向上运输的负压(图 3-8)。因此，在蒸腾过程中木质部水分运输的动力产生于叶片细胞的气-水界面上。




| | 曲率半径/μm | 静水压/MPa |
| --- | --- | --- |
| a | 0.5 | -0.3 |
| b | 0.05 | -3 |
| c | 0.01 | -15 |

图 3-8　叶细胞壁上水张力或负压产生的来源 (Taiz & Zeiger　1998)

## 二、植物蒸腾的方式

植物的蒸腾主要是叶的蒸腾。

植物叶片的表层是排列紧密的表皮细胞，在表皮细胞的外侧或在叶片的表面通常有一层角质层。角质层是水、气扩散的障碍，蒸腾中大约只有 5%的水分是通过角质层的扩散进入大气的，这种通过角质层进行的蒸腾称为角质层蒸腾(cuticular transpiration)。绝大多数水分的蒸腾是通过叶片上的特殊结构——气孔(stomata)进行的。气孔是由叶表皮细胞分化形成的保卫细胞(guard cell)围绕而成的小孔。有关气孔的细节我们将在以后介绍。

叶片中叶肉细胞的排列比较松散，其间有较大的细胞间隙，在有些植物中叶肉细胞的间隙可以占到叶片体积的 70%。这个由细胞间隙贯通形成的空间经由气孔连接到外界大气空间，所以也称气孔下空间(substomatal space)。叶肉细胞的表面可以形成很大的细胞蒸发表面。据测定，阴生植物叶片内细胞间隙总面积比叶片外表面积大 6～9 倍；在中生植物中为 12～18 倍；在旱生植物中可以高达 16～29倍。但是许多研究表明，在叶肉细胞表面有角质层，因此不太可能作为水的主要蒸发表面。于是提出气孔附近的表皮细胞的内表面可能是水进行蒸发的主要部位。这种蒸发方式也称为孔缘蒸发(peristomatal evaporation)。目前关于水在叶内空间究竟是从叶肉细胞表面蒸发还是在孔缘蒸发还有待进一步的研究。因此，也许我们可以这样表述叶片上水的蒸腾途径：水是在叶肉细胞间隙表面，特别是在气孔附近的表皮细胞的内表面进行蒸发，水蒸气再通过气孔扩散到外界大气中(图 3-9)。

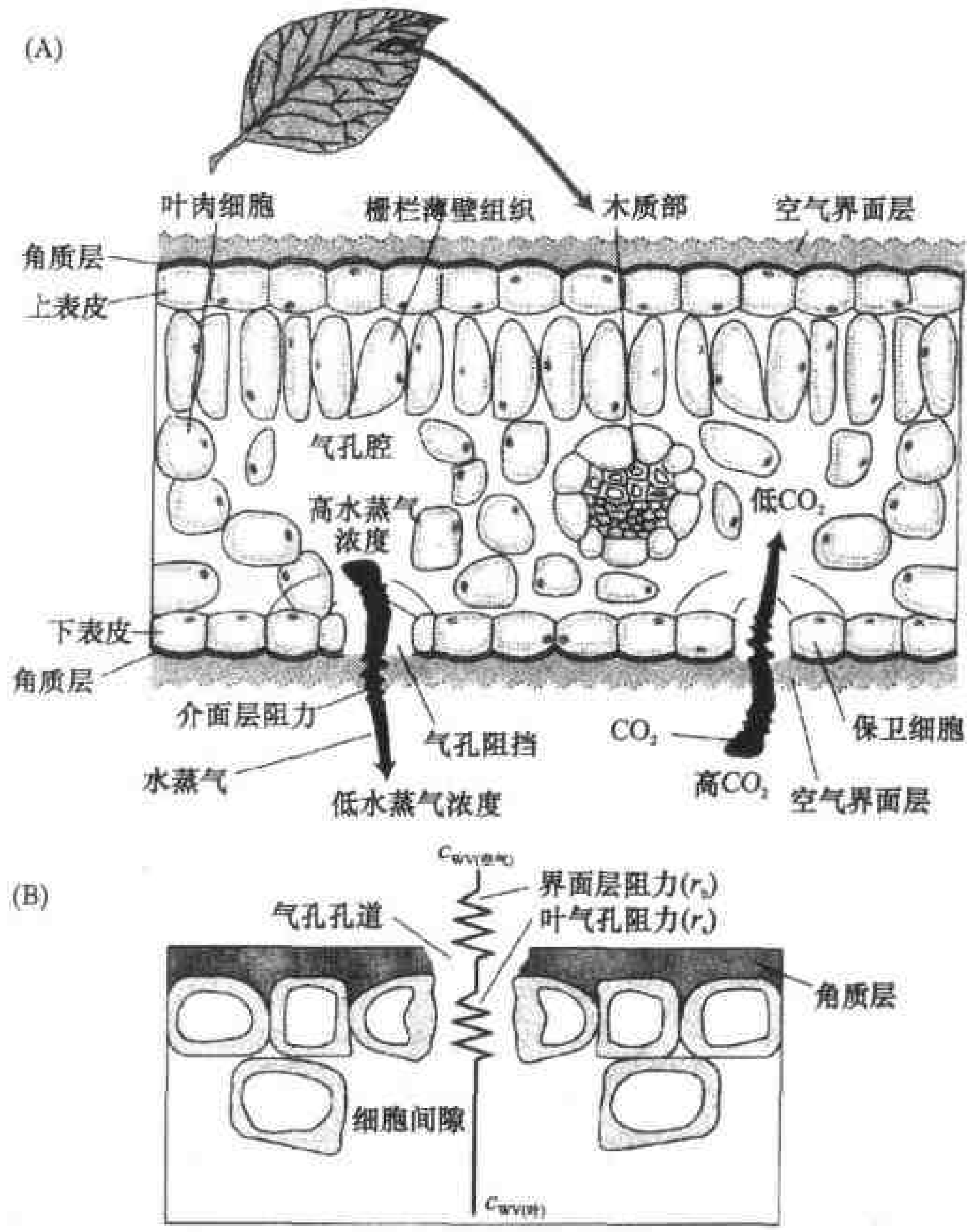



图 3-9 叶片中水的蒸腾途径（Taiz & Zeiger 1998）

(A)水和$CO_2$通过气孔的扩散示意图；(B)用电路方式表示的气孔扩散阻力。

植物通过茎、枝上的皮孔也可以进行蒸腾，称为皮孔蒸腾，但是皮孔的蒸腾量非常小，仅占全部蒸腾量的0.1%左右。

## 三、蒸腾的指标

### （一）蒸腾速率

蒸腾速率是指植物在单位时间内单位面积通过蒸腾作用所散失的水量，也可称为蒸腾强度。一般用$g/(m^2\cdot h)$表示。

水在气孔下空间蒸发后，需要通过扩散进入大气。水蒸气在空气中的扩散是非常迅速的，此外，水蒸气从气孔下空间扩散到外界大气的距离也很短。如果假设水蒸气从气孔下空间扩散到外界大气的距离为1mm，水蒸气在空气中的扩散系数是$2.4\times10^{5}\,m^2/s$，代入第二章方程式2.7，经计算可以得到：水蒸气从气孔下空间扩散到外界大气只需约0.042s。由此可见，水蒸气在空气中的扩散速度对于叶子的蒸腾作用是足够迅速的，扩散并不是蒸腾的限制因素。

实际上，蒸腾速率主要是由叶片气孔下空间的水蒸气浓度和大气中水蒸气浓度之间的浓度差以及水蒸气扩散途径的阻力所决定的。可以用下式表示：

$$蒸腾速率 = 水蒸气浓度差 / 水蒸气扩散阻力 \qquad (3.2)$$

**1. 水蒸气的浓度差**

水蒸气的浓度差是水分散失的动力。水蒸气浓度差是叶气孔下空间的水蒸气的浓度与大气中水

蒸气的浓度的差值。水蒸气浓度差也可以水蒸气压表示，称为水蒸气压亏缺(water vapor pressure deficit)。水蒸气压用 kPa(千帕)表示，与水蒸气浓度成正比。大气中水蒸气浓度比较容易测量，但是叶内的水蒸气浓度的测量却非易事。如果我们假定叶细胞间隙中水蒸气的水势与叶细胞的水势处于平衡状态，我们可以根据测量所得的叶细胞的水势 $\Psi_w$和叶片的温度，用下式得到相对湿度：

$$\Psi_w = RT/V_w \ln(RH) \tag{3.3}$$

其中 $R$ 是气体常数；$T$ 是热力学温度；$V_w$是液体水的偏分摩尔体积；$RH$ 是相对湿度。

相对湿度是在该温度下水蒸气浓度和饱和水蒸气浓度的比值，即：

$$RH = c_{wv}/c_{wv(sat)} \tag{3.4}$$

由上式即可得到水蒸气浓度 $c_{wv}$。

在这里首先值得注意的是水分散失的动力是水蒸气的浓度而不是相对湿度 $RH$；再者，$RH$ 是依赖于叶片温度的。

**2. 水蒸气的扩散阻力**

控制水分散失的第二个因素是水蒸气的扩散阻力。水蒸气的扩散阻力是水蒸气在扩散过程中各部分阻力的总和。其中最重要的有两个，首先是水蒸气通过气孔时的阻力，称为气孔阻力(stomatal resistance)。由于叶片角质层的不透水性，水蒸气的扩散主要通过气孔进行，微小的气孔为气体的扩散提供了低阻的通道，因而改变气孔阻力也是控制蒸腾的最主要的因素。有关气孔的情况将在以后进行讨论。

其次是水蒸气通过叶面的静止空气层——界面层(boundary layer)的阻力，称为界面层阻力。水蒸气扩散经过气孔后还需跨过叶片表面的界面层才能到达外界大气。界面层是紧贴着叶子表面的一薄层未被扰动的空气层，它对水蒸气的扩散阻力与其厚度成正比。影响界面层厚度的重要因素是风。当空气静止无风时界面层可能会变得相当厚，这时它就成为决定水蒸气扩散阻力的主要因素。在这样的情况下，即使气孔完全打开，蒸腾速率也无法提高。而当风速增加界面层的厚度降低时界面层对水蒸气扩散的阻力就会减小，这时气孔阻力又成为控制蒸腾速率的主要因素。风还可以从另一方面对蒸腾发生影响，当叶子的温度高于空气温度时，风可以增加热的散失降低叶温，因面降低叶内水蒸气浓度，也就降低了蒸腾的速率。

叶子的形态解剖特性也可以影响界面层的厚薄。叶表面的叶毛可以减少风对界面层的影响；某些植物具有下陷的气孔，保护其免受风的影响。虽然界面层可以受到各种因素的影响，但是植物对外界环境快速和灵敏的调控反应还是靠气孔的调节。

## (二) 蒸腾系数

蒸腾系数(transpiration ratio)是指植物光合作用固定每摩尔的 $CO_2$所需蒸腾散失的水的量(单位 mol，下同)，即：

$$蒸腾系数 = 蒸腾散失的水分的量 / 光合作用固定的 CO_2 的量 \tag{3.5}$$

蒸腾系数是表示植物在光合作用吸收 $CO_2$的同时水分散失的效率。不同类型的植物常有不同的蒸腾系数，木本植物的蒸腾系数较草本植物为小，$C_4$ 植物较 $C_3$ 植物为小。典型的 $C_3$ 植物的蒸腾系数为 500，典型的 $C_4$ 植物的蒸腾系数只有约 250，面适应于沙漠生存条件的 CAM 植物的蒸腾系数可以达 50 左右。

植物通常在进行光合作用的同时总需要消耗大量水分，或者说蒸腾系数较高。其中的原因首先是因为空气中 $CO_2$ 的浓度很低面叶子内的水蒸气浓度却很高，推动水蒸气向叶外扩散的水蒸气浓度梯度比推动 $CO_2$ 向叶内扩散的 $CO_2$浓度梯度要高 50 倍；其次，由于 $CO_2$分子比水分子大，其扩散速度比水蒸气慢 1.6 倍；此外，$CO_2$ 进入细胞叶绿体必须扩散经过质膜和叶绿体膜才能最终到达光合作用

的场所。

## 四、气孔蒸腾

水分通过气孔进行的蒸腾称为气孔蒸腾。

陆生植物面临的一个困难问题是，植物既要从大气中获取$CO_2$进行光合作用，又要防止水分的散失，而大气和叶子内$CO_2$的浓度差比起两者间水蒸气浓度差要小得多，因此$CO_2$扩散进入叶子比起水蒸气扩散出叶子也要慢得多。叶子表面的角质层有效地防止了水分的散失避免了叶片干燥，但是同时也使$CO_2$的进入更加困难。气孔正是植物在进化过程中产生的解决这个矛盾的重要结构。

气孔是叶表皮细胞分化而形成的小孔隙。气孔可以通过调节其小孔的大小来控制气体进出叶子。当夜晚植物停止光合作用无需从空气中获取$CO_2$时，气孔关闭从而避免了水分的散失；当阳光普照水源充足植物进行光合作用需要大量$CO_2$时，气孔又会张开以满足光合作用对$CO_2$的需要，这时由于水分的供应可以充分满足蒸腾的需要，而蒸腾也给叶子带来光合作用所需的矿质元素。在土壤水分发生亏缺时，气孔会维持较小的孔径甚至完全关闭，以避免脱水的伤害。

不同植物的气孔的数目多少和分布也有所不同。阳生植物具有较多的气孔，气孔数可以达到100～200个/$mm^2$；而阴生植物的气孔较少，一般为40～100个/$mm^2$。大多数植物叶的上下表皮都有气孔，例如玉米、水稻、大麦、小麦等禾谷类作物的叶片的上下表皮都有气孔分布，且数目大致相等；双子叶草本植物，如马铃薯、蚕豆、番茄、豌豆等的气孔大多分布在下表皮；木本植物的气孔只分布在下表皮；而水生植物，如浮萍的气孔则仅分布在上表皮。

在气体通过气孔进出叶子的扩散过程中，气体浓度差和界面阻力一般来说是物理的过程，它们不受植物的生物学控制，而气孔的阻力则是植物通过其生理活动所控制的，是植物调节叶片气体交换的主要手段。

### （一）气孔复合体

气孔的控制依赖于它的精巧结构。气孔的小孔是由一对特化的表皮细胞围绕而成，这对特化的细胞称为保卫细胞（guard cell）。保卫细胞存在于所有的维管植物之中，以及一些更原始的植物如苔藓类植物中。保卫细胞虽然在结构上有相当大的变异，但是总的来说可以分为两大类（图3-10）。第一类存在于大部分双子叶植物以及许多单子叶植物、苔藓类植物、蕨类植物和裸子植物中。这类保卫细胞是一对肾形的细胞，并列形成椭圆的外形，中间是通气的小孔。另一类保卫细胞存在于许多草本植物和某些单子叶植物（如棕榈）中。这一类植物的保卫细胞是一对并列的呈哑铃状的细胞，两端是哑铃的球状体，中间两个哑铃把之间的缝隙即是通气小孔。在两个保卫细胞的外侧各有一个分化的表皮细胞称为副卫细胞（subsidiary cell），帮助保卫细胞控制小孔。虽然在具有肾形保卫细胞的植物种属中很多都有副卫细胞，但是仍有许多并没有副卫细胞，因此把与保卫细胞毗连的，在形态上与表皮细胞相同的细胞称为邻近细胞（neighboring cell），而把形态上分化的细胞称为副卫细胞。

保卫细胞、副卫细胞或邻近细胞以及保卫细胞中间的小孔合在一起称为气孔复合体（stomatal complex）。

保卫细胞的一个重要特征是其部分细胞壁明显加厚，保卫细胞部分壁可加厚到5$\mu m$，而普通表皮细胞的壁仅约1～2$\mu m$厚。肾形保卫细胞的细胞壁是不均等加厚的，它们具有较薄的外侧壁（靠表皮细胞一侧）称为背壁（dorsal wall）以及很厚的内侧壁（靠小孔一侧）称为腹壁（ventral wall）。在腹壁靠大气的一侧细胞壁加厚形成突出，形成小孔。

保卫细胞的壁除了加厚之外，它们的纤维素微纤丝的排列方式也具有重要的特征（图3-10）。肾形保卫细胞细胞壁的纤维素微纤丝从小孔向外辐射状排列，这样的排列不仅加固了保卫细胞的外围，

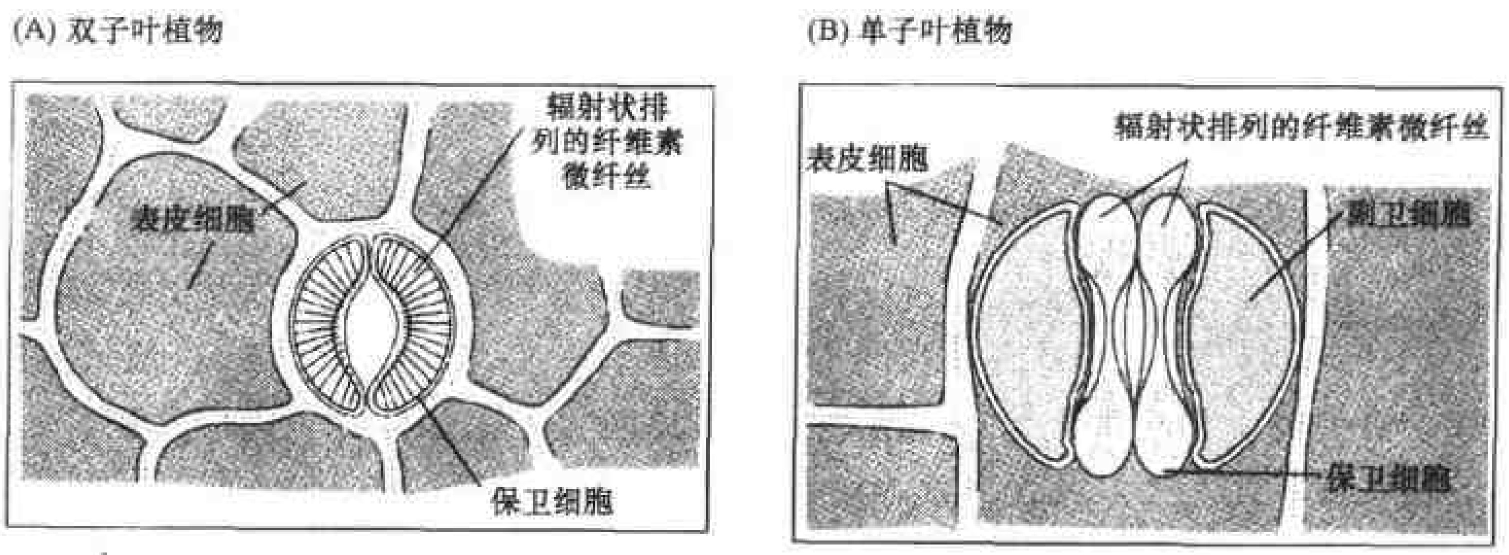



图 3-10 植物的两类气孔复合体 (Taiz & Zeiger 1998)

又不会影响气孔打开时保卫细胞的弯曲。哑铃形保卫细胞细胞壁的纤维素微纤丝则像射线从气孔的缝隙向两端辐射，这样在气孔打开和关闭的过程中就像扇子的骨架一样开合而不至阻碍气孔的运动。

除了外形特征外，保卫细胞与周围表皮细胞重要的区别之一是：保卫细胞具有叶绿体而表皮细胞不具备叶绿体。对于大多数植物，每个保卫细胞含有大约 10 个叶绿体，阴地植物可达 50 个。保卫细胞的叶绿体中含有丰富的淀粉体，黑暗时淀粉积累，而光照时淀粉减少，这与正常光合细胞中的情况恰好相反。保卫细胞中的线粒体异常丰富，每个保卫细胞里线粒体的数目在同一体积上为叶肉细胞的 5～10 倍。保卫细胞中液泡的数量随气孔的开关而变化，气孔关闭时具有多个小液泡，气孔开张时液泡变大或合并为一个。成熟的保卫细胞与周围细胞间没有胞间连丝存在。

## （二）气体扩散的小孔定律

气孔虽然很多，但其总面积仅占叶片表面积的 1%，似乎很难满足气体扩散的需要，但是实际上，通过气孔的水分的蒸腾量可以相当于与叶面积相等的自由水面积的蒸发量的 50%，甚至达到 100%。其原因是因为气孔的面积很小，水通过小孔蒸发的扩散过程是依气体扩散的小孔定律进行。气体通过小孔表面的扩散速率不是与小孔的面积成正比，而是与小孔的周长成正比，这就是气体扩散的小孔定律。当一定面积的蒸发面被划分为许多小的蒸发面时，由于其蒸发面的周长极大的增加，因此蒸发速率也大为提高。这就是为什么较小面积的气孔可以维持较大蒸腾量的原因。

## （三）气孔运动

**1. 气孔运动的方式**

保卫细胞的运动（或形状的改变）可以造成小孔关闭或打开。对于具有肾形保卫细胞的气孔，当一对肾形保卫细胞向外弯曲时，它们之间的小孔就会打开，反之就会关闭。对于具有哑铃形保卫细胞的气孔，当保卫细胞两端的哑铃球膨胀变大时，它们之间的缝隙就会变宽，孔道变大，反之孔道就被关闭。

大多数植物的气孔在白天张开，使大气中 $CO_2$ 扩散进入叶内用于光合作用，而在夜晚光合作用停止时，气孔关闭以减少水分的散失。但是一些在沙漠条件下生长的植物，如仙人掌科及凤梨科植物具有景天酸代谢途径（CAM 途径），它们的气孔运动与其他植物不同。在炎热干燥的白天，气孔关闭以避免过度的水分散失，而在夜晚温度降低时气孔则逐渐打开。由于白天气孔关闭 $CO_2$ 无法进入植物体内，因此这类植物在长期的进化过程中形成了特殊的 $CO_2$ 同化方式。有关 CAM 途径将在第七章中讨论。

气孔的运动是个相当复杂的过程，在同一叶片上的气孔有时会出现一些气孔开放而相邻的气孔却部分关闭的现象，这样的气孔称为斑驳气孔（patchy stomata）。

**2. 环境因素对气孔运动的影响**

气孔的运动受到各种环境因素的影响。

(1) *光照* 光照是引起气孔运动的主要环境因素。大多数植物的气孔在光照下张开，而在黑暗下关闭。气孔在清晨张开的过程大约需要 1 小时，而关闭的过程则延续整个下午，逐渐地进行。引起气孔张开所需的光照强度很低，只相当于全光照的 1/1000～1/30，刚刚够净光合作用的发生。

(2) $CO_2$ 低浓度 $CO_2$ 可以导致大多数植物气孔张开。即使在黑暗条件下，用无 $CO_2$ 的空气处理叶片同样会引起气孔的张开。而用高浓度的 $CO_2$ 处理则会使气孔部分关闭。但是如果气孔完全关闭，用无 $CO_2$ 的空气处理却无法使气孔张开，说明对气孔运动起作用的是气孔下空间的 $CO_2$ 浓度，而不是叶面 $CO_2$ 的浓度。

(3) *空气湿度* 许多植物对大气中水蒸气压非常敏感。当空气干燥，空气中水蒸气压和气孔下空间水蒸气压之间的差值达到一定阈值时，气孔就会关闭。当发生水分亏缺时，无论其他有关气孔运动的因素如何，气孔都会发生关闭。

(4) *温度* 高温(30～35℃)会导致气孔关闭。这可能是一种间接的影响。高温可能使水分散失的速率增加，或者使细胞的呼吸增加，导致叶内的 $CO_2$ 浓度增加，从而使气孔关闭。但是也有一些植物在高温条件下，气孔反而会张开，结果蒸腾速率加快使叶温下降。

(5) *风* 风会使气孔关闭。这可能也是间接的影响。因为风可以降低气孔对气体的扩散阻力，因而使叶内 $CO_2$ 浓度增加，此外风也会加速水的散失，结果导致气孔的关闭。

虽然气孔的运动受到各种环境信号的控制，但是气孔运动有其自身的内在节律。如果将植物置于黑暗中，气孔白天开张夜晚关闭的 24 小时周期节律仍然可以维持一段时间。

## (四) 气孔运动的调节机制

总的来说，引起气孔运动的直接原因是保卫细胞的膨压发生改变。当保卫细胞膨压发生改变时，由于细胞壁的不均匀加厚，细胞会发生相应的形变，例如肾形保卫细胞在膨压增加时会向两边弯曲，哑铃形保卫细胞在膨压增加时两端的哑铃球会膨胀变大，于是气孔的孔径就会变大，反之气孔的孔径就会变小。保卫细胞的膨压变化是受到多种机制调节的。

**1. 气孔运动对蓝光的反应**

在无水分胁迫的自然环境中，光是最主要的控制气孔运动的环境信号。

气孔对光的反应是两个不同系统的综合效果。一个依赖于保卫细胞的光合作用，另一个是被蓝光所推动的。如果用光合电子传递的抑制剂二氯苯基二甲脲(dichlorophenyldimethylurea，DCMU)处理叶片，发现气孔对白光的开放反应被部分抑制。这表明保卫细胞叶绿体的光合作用参与了依赖于光的气孔开放。但是对光合作用的抑制并不能完全抑制气孔的开放，因此说明有非光合作用的组分参与气孔对光的反应。

(1) *双光实验* 双光实验的结果可以证明气孔对光的反应是由两个完全不同的系统推动的。在双光实验中，红光被用于使光合反应饱和，在红光的饱和效应完成以后再加以蓝光。结果蓝光引起气孔明显进一步开张，这个效应不能用光合作用来解释，因为增加红光并不能引起相同的效应(图 3-11)。对这种气孔开张效应的作用光谱的研究结果也说明，这是典型的蓝光反应(图 3-12)。

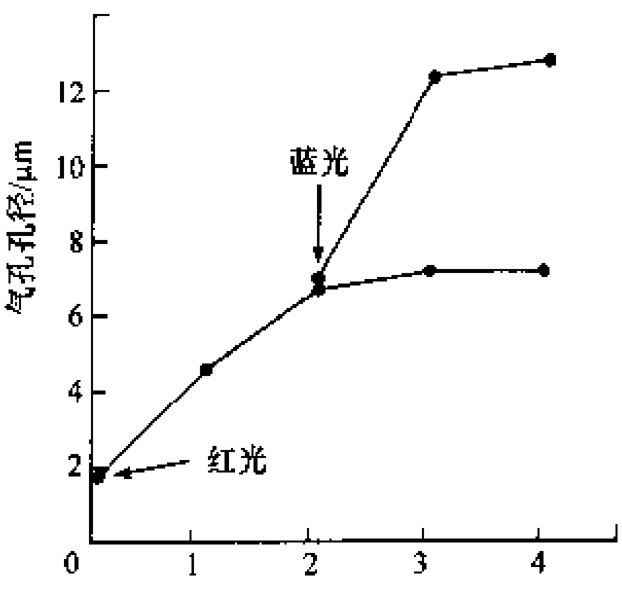



图 3-11 气孔在红光背景下对蓝光的反应 (Taiz & Zeiger 1998)

用饱和红光照射鸭跖草(*Commelina communis*)表皮条，当外加蓝光照射时引起气孔的进一步开张，说明存在接收蓝光的受体参与气孔的调节。

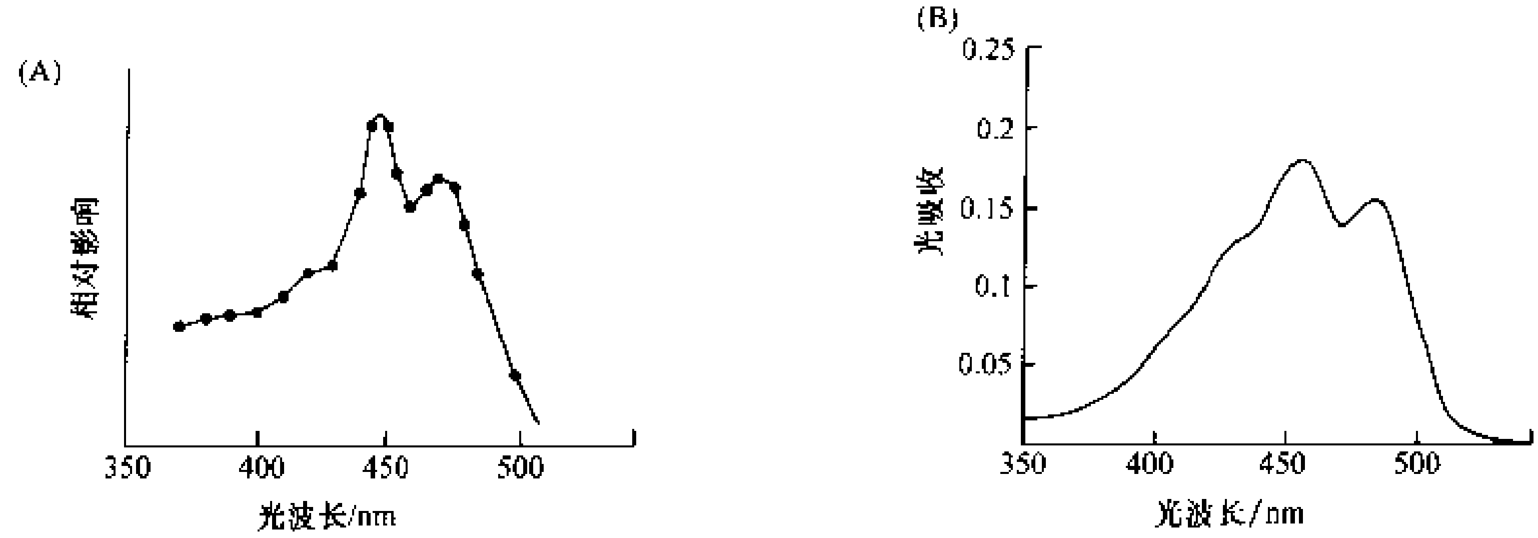



图 3-12 蓝光对气孔开张的效应与蓝光吸收的比较（Taiz & Zeiger 1998）

（A）蓝光的作用效率曲线；（B）蓝光受体叶黄素的吸收曲线。

这些实验说明存在一个蓝光激发的参与气孔开张的控制系统。如果用蓝光照射保卫细胞的原生质体，保卫细胞原生质体会发生膨胀，说明这种蓝光反应是发生在保卫细胞中的。保卫细胞原生质体的膨胀说明，在有壁的情况下保卫细胞的膨压会发生改变，而膨压的改变正是气孔运动的原因。

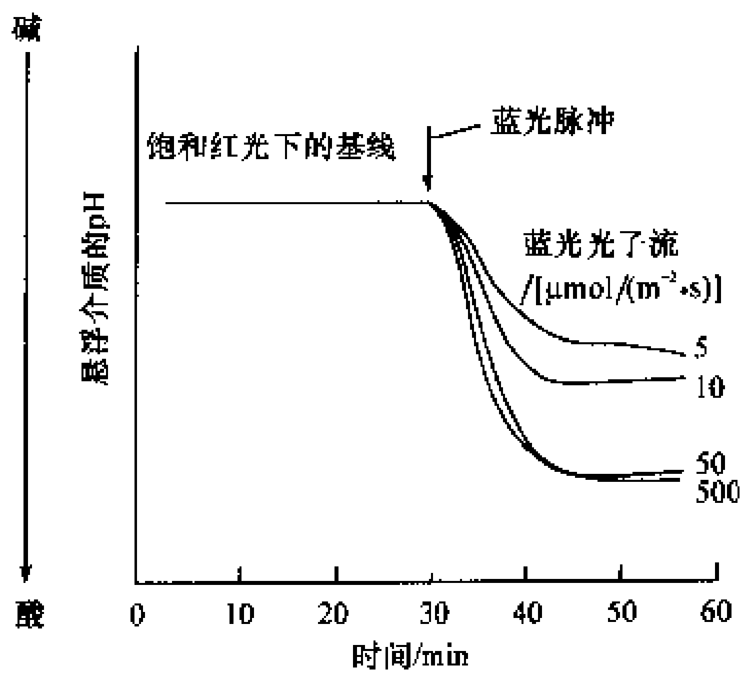



图 3-13 用蓝光刺激蚕豆保卫细胞原生质体所引起的悬浮介质的酸化效应（Taiz & Zeiger 1998）

在饱和红光下，不同强度的 30 秒脉冲蓝光可以刺激保卫细胞 $H^+$-ATPase，从而使介质酸化。

（2）蓝光活化的 $H^+$-ATPase　在双光实验中，当植物叶片用红光饱和时，蓝光的照射会引起质子从细胞外流，因而细胞外溶液酸化（图 3-13）。这个蓝光引起的溶液酸化对破坏跨膜质子梯度以及抑制质子泵 $H^+$-ATPase 的抑制剂敏感，说明蓝光的酸化效应是通过细胞质膜上的 $H^+$-ATPase 将细胞内的质子泵出细胞所致。$H^+$-ATPase 是致电泵，因为它泵出的质子是带电荷的。致电泵活动引起的电流可以用膜片钳等技术进行测定。在饱和红光下，蓝光的照射脉冲的确可以引起一个外向的电流（图 3-14），但是外加的红光却没有这样的效应，因此它是蓝光的特异性效应。

光合作用反应通常是光照时迅速活化而光照停止时迅速中止，而蓝光的反应却有所不同，在用蓝光进行脉冲照射后蓝光反应仍可持续数分钟，这是和其他的蓝光反应相同的。蓝光受体在蓝光照射下从非生理活性的状态转变为生理活性的状态，在缺少蓝光时则缓慢地由生理活性状态转变为非生理活性状态。因此对脉冲蓝光的反应速率可能取决于蓝光受体由活性状态转变为非活性状态的过程。此外，在蓝光照射和反应之间，例如介质酸化或外向电流等之间有一个约 20 秒的滞后期，这个滞后期可能是由于信号被蓝光受体接受以后需要经过一系列的传递过程才能作用到 $H^+$-ATPase 等效应分子。

蓝光的反应强度，例如酸化程度和外向电流的大小是和蓝光的强弱有关的，在非饱和光强、同样的照射脉冲长度的条件下，蓝光引起的反应是和蓝光的强度成正比的，并随着蓝光光强的增加逐渐趋于饱和。与其他光生物学反应一样，蓝光所引起的气孔孔径大小变化的反应遵循反比定律（reciprocity law），即它的反应取决于总光量的大小，而不是仅仅取决于光强度或光照的长度。因此气孔可以作为叶片的“光感受器”来感知到达叶面的光量。

蓝光刺激的 $H^+$-ATPase 质子泵的效率（以单位光能量引起的质子流量来衡量）比保卫细胞中光合作用 ATP 合成的效率要高 15 倍，因此这不是一个简单的能量转化过程。蓝光信号如同其他生物信号传导一样在传导过程中是经过放大的。

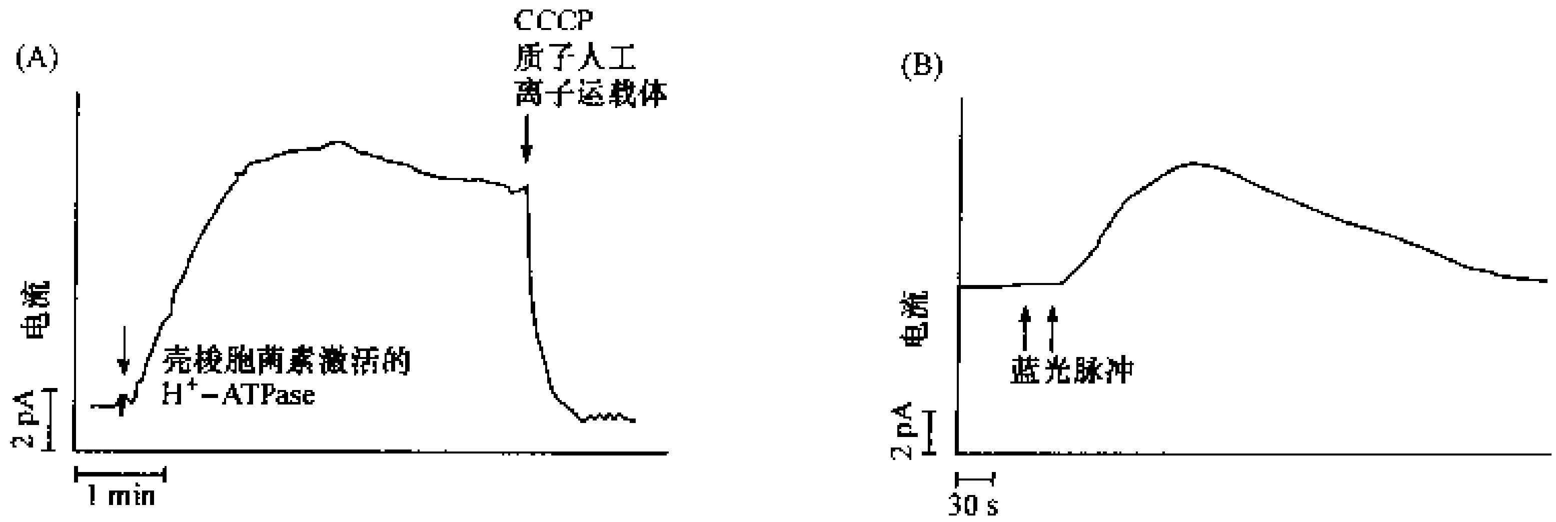



图 3-14 用膜片钳测定的保卫细胞原生质体的跨膜质子电流（Taiz & Zeiger 1998）

（A）利用壳梭胞菌素刺激的保卫细胞原生质体质膜的外向电流，该电流可以被质子人工运载体 CCCP 所抑制；

（B）由蓝光刺激所引起的保卫细胞原生质体质膜的外向电流。

当所用红光在饱和强度之下时，红光越强气孔对蓝光的反应也越强。在其他光生物学反应中有关红光对蓝光效应的作用可能是由于蓝光受体和光敏色素之间的相互作用，但是目前还没有发现光敏色素对气孔开张有任何影响。因此 Quinones 和 Zeiger 等提出叶黄素假说，认为由于光合作用而积累在保卫细胞中的类胡萝卜素——玉米黄素可能涉及蓝光的接收。

（3）玉米黄素假说　玉米黄素（zeaxanthin）有可能是蓝光反应的受体。玉米黄素是叶绿体中叶黄素循环（xanthophyll cycle）的三个组分之一，是植物光保护的机制之一。保卫细胞中具有典型的玉米黄素的组成和叶黄素循环。叶黄素循环在保卫细胞中显然起着信号传导的作用。

有一些研究证据支持玉米黄素假说。

①根据对蚕豆保卫细胞中玉米黄素的含量测定可以发现：保卫细胞中玉米黄素的含量是与叶表面的入射日光辐射量有关的，特别是在清晨和傍晚几乎与光量成正比。如果这种色素参与蓝光的感受，这样的与光强成比例的关系是重要的。

②玉米黄素的作用光谱和蓝光反应的作用光谱非常吻合（图 3-12）。

③生物化学和代谢的研究表明玉米黄素与气孔的蓝光反应在功能上是相关的。例如，二硫苏糖醇（dithiothreitol, DTT）可以还原二硫键因而抑制紫黄素的去环氧化生成玉米黄素。DTT 也同时抑制蓝光刺激气孔张开的效应。但是 DTT 对由红光诱导的气孔张开的效应却没有影响。说明 DTT 并不干扰与光合作用相关的气孔运动。

④在拟南芥（*Arabidopsis*）的突变体 *npql* 中由于紫黄素转化为玉米黄素的酶有缺陷，因此无论叶肉细胞或者保卫细胞的叶绿体在光照下和黑暗中都无法积累玉米黄素。对这种突变体的研究表明，气孔对蓝光和红光都只表现出与光合作用相关的反应，而缺少对蓝光的特异反应。因此，玉米黄素是气孔运动的蓝光反应所必需的。

玉米黄素假说说明了为什么增加背景红光会促进保卫细胞的蓝光反应。因为光合作用可以促进玉米黄素的积累。当保卫细胞被红光照射时，会增加光合速率从而使玉米黄素在叶绿体中积累，而玉米黄素的积累会增加气孔对蓝光的反应强度，因此增加背景红光会促进保卫细胞的蓝光反应。

玉米黄素假说认为气孔对蓝光的反应信号传导是从玉米黄素被蓝光激发开始的。气孔对蓝光反应的强度取决于保卫细胞中玉米黄素的含量和入射的蓝光总量。

玉米黄素的浓度取决于类胡萝卜素库的大小和叶黄素循环的调节。类胡萝卜素库的大小是和保卫细胞的生长环境有关的，叶上表皮的保卫细胞生长在光照较强的条件下，而叶下表皮上的保卫细胞则生长在光照较弱的条件下，因此上表皮的保卫细胞比下表皮的保卫细胞具有较大的类胡萝卜素库，较大的类胡萝卜素库使保卫细胞具有较强的蓝光反应以适应较强的光照条件。

玉米黄素的含量也和叶黄素循环有关。在叶黄素循环中将紫黄素转化为玉米黄素的酶是类囊体膜上面向类囊体腔的膜内在蛋白，它的酶活性是和类囊体腔的 pH 有关的。当质子在类囊体腔累积，降低腔内 pH 时，会加速玉米黄素的生成；反之，当类囊体腔的质子浓度减小，pH 升高时，玉米黄素则向紫黄素转化。由于气孔对蓝光的反应依赖于玉米黄素的含量而玉米黄素的含量又受到叶黄素循环的调节，因此蓝光感受系统具有极大的灵活性。任何改变保卫细胞叶绿体中光合电子传递和碳固定速率的环境因素都会影响类囊体腔的 pH，因而改变玉米黄素的浓度，也就改变了保卫细胞对蓝光反应的敏感性。这样的关系可以解释背景红光的效应，以及 $CO_2$和光的相互作用等情况。

玉米黄素被激发之后的确切过程还有待研究，其中蓝光激发的最可能的光化学反应是玉米黄素的异构化(isomerization)。玉米黄素的异构化引起其脱辅基蛋白(apoprotein)构象变化，然后是一系列的信号传导过程。蓝光信号是在叶绿体中被接受的，需要通过第二信使跨叶绿体膜将信息传递到细胞质中，最终激活质膜上的 $H^+$-ATPase 质子泵。钙有可能作为这样的第二信使。在叶绿体膜上存在 $Ca^{2+}$-ATPase，光照时叶肉细胞的叶绿体可以吸收钙，而在保卫细胞中细胞质的钙浓度降低，会激活质膜的 $H^+$-ATPase 质子泵。

总的来说，玉米黄素在接受蓝光信号并发生变构，以后可能是通过活化叶绿体膜的 $Ca^{2+}$-ATPase，吸收细胞质中的钙使细胞质中的钙浓度降低，细胞质中钙浓度的降低又激活质膜的 $H^+$-ATPase，改变细胞的溶质势，引起气孔运动。当然还有可能其他的信号传导途径参与此过程。蛋白激酶、磷酸酶、三磷酸肌醇($IP_3$)以及钙调素等都与蓝光激发的气孔张开有关，因此在细胞质中的信息传递过程可能是相当复杂的。

蓝光不仅刺激质子的外流，同时也刺激淀粉的水解和苹果酸的合成。

**2. 气孔运动的渗透调节**

我们在前面已经说明气孔运动是由于保卫细胞的膨压变化而引起的。进一步的问题是：保卫细胞的膨压变化又是由什么引起的？保卫细胞的膨压变化是由于离子和有机物质进出保卫细胞使细胞的渗透势发生改变，细胞的水势也就发生改变，细胞水势的改变会引起水进出细胞，水进出细胞导致细胞膨压发生改变。

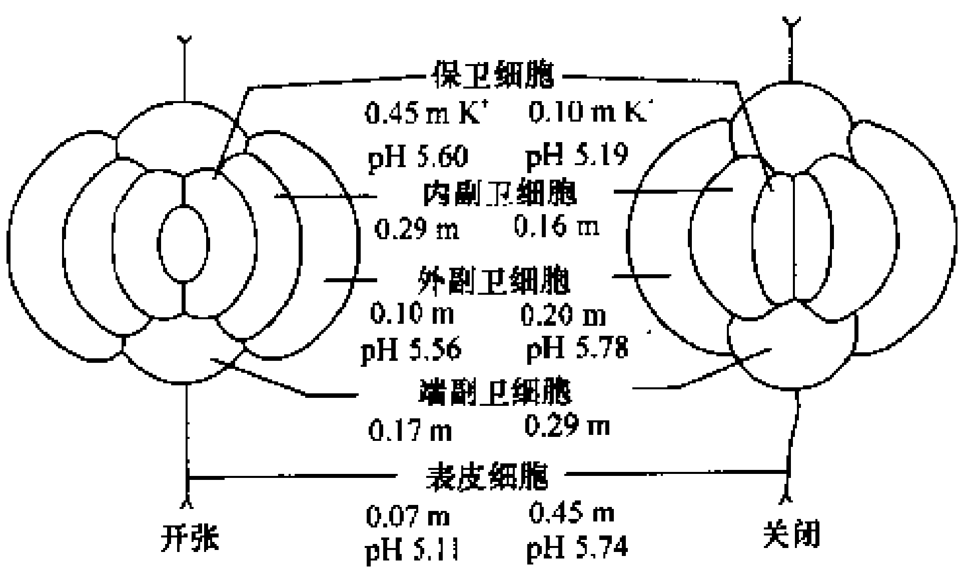



图 3-15　气孔处于开张或关闭状态时，气孔复合体细胞中钾离子浓度和 pH 的测定结果

图中“m”代表 mol/L，如 0.10 m $K^+$，表示 $K^+$浓度为 0.1mol/L。

(1) *钾离子*　钾离子已被证明是引起保卫细胞渗透势发生改变的最重要的离子(图 3-15)。

在气孔开张时保卫细胞中钾含量增加；而当气孔关闭时则减少。在开张的气孔中钾的含量可以提高数倍，气孔关闭时保卫细胞钾浓度约 100mmol/L，而在开张的气孔中保卫细胞的钾浓度可以达到 400～800mmol/L。钾离子增加所带来的细胞内正电荷的增加可以被氯离子和苹果酸根所平衡，因此在钾离子增加时其苹果酸盐和氯离子也增加。在气孔张开时氯离子与钾离子一样被保卫细胞吸收，在气孔关闭时又被排出保卫细胞。但是苹果酸则是在保卫细胞的细胞质中合成的，合成代谢需要淀粉的水解。在保卫细胞叶绿体中含有许多淀粉，这些淀粉在气孔张开时会消失。在蓝光的促进下淀粉被分解成磷酸烯醇式丙酮酸(phosphoenolpyruvate，PEP)，PEP 经羧化结合 $CO_2$形成草酰乙酸，草酰乙酸则转化为苹果酸。苹果酸在气孔关闭时含量是减少的，但是目前还不清楚苹果酸的减少是由于在线粒体中被代谢掉了还是被保卫细胞排出细

胞外。

植物是用氯离子还是用苹果酸根平衡钾离子依植物种类而不同。在一些植物中(例如洋葱)钾离子由氯离子平衡，而在许多其他植物中则由不同比例的氯离子和苹果酸根所平衡。用于平衡钾离子的氯离子和苹果酸根的比例也是和环境条件有关的。例如对于生长在温室的蚕豆保卫细胞中的钾离子主要是由氯离子平衡的；而生长在生长箱中的蚕豆保卫细胞中很大部分的钾离子是由苹果酸根平衡的。因为在这两种条件中温室更接近自然环境，所以自然条件下植物可能是以氯离子来平衡钾离子的。

钾离子和氯离子的跨膜运输是由 $H^+$-ATPase 质子泵建立的质子梯度来推动的次级运输。质子被排出保卫细胞使其跨膜电势变得更负，由光照引起的膜的超极化可以达到 50mV。除此之外，质子泵建立起 pH 值相差大约 0.5～1 单位的质子梯度。质子泵建立的电势差可以用于钾离子通道的被动运输；而氯离子则可能是通过氯-质子共运载体进入保卫细胞。因此蓝光活化质子泵是保卫细胞渗透调节的重要机制。

(2) *蔗糖*　气孔运动的蔗糖-淀粉假说最初是由植物生理学家 F. E. Lloyd 在 1908 年提出的，认为气孔运动是由于保卫细胞中蔗糖和淀粉间的相互转化而形成的渗透势改变而造成的。保卫细胞的叶绿体中有明显的淀粉大颗粒，当气孔张开时淀粉的含量下降而气孔关闭时淀粉含量则上升。淀粉是水不溶性的大分子多聚体，它对细胞的渗透势没有影响；但是淀粉水解转化为可溶性糖后会对保卫细胞的渗透势产生重要影响。因此淀粉水解时蔗糖含量增加，保卫细胞的渗透势降低，水进入细胞使细胞膨压增加，气孔因而张开；反之当淀粉合成时蔗糖含量减少，保卫细胞渗透势增加，水离开细胞使细胞膨压降低，气孔因而关闭。

气孔运动的蔗糖-淀粉假说曾被广泛接受，但是由于钾离子在保卫细胞渗透调节中重要作用的发现使得这一假说被忽视。最近的研究结果表明蔗糖在保卫细胞渗透调节的某些阶段起着重要的渗透溶质的作用。

如果对气孔在一天中的变化进行连续的观察，发现当气孔在上午逐渐张开时伴随着保卫细胞钾含量的增加，但是下午较早时候当气孔孔径仍然在增加时钾离子却已经开始下降。在这样的情况下，蔗糖浓度在上午缓慢增加逐渐成为主要的渗透溶质，当气孔在较晚时候关闭时蔗糖的浓度亦随之下降(图 3-16)。这个观察结果似乎表明气孔的张开与钾离子的吸收有关而气孔的关闭则和蔗糖浓度的下降有关。因此在气孔的运动中可能有不同的渗透调节阶段：在日出时光照引起的气孔张开阶段，保卫细胞对钾离子的吸收是主要的渗透调节机制；在日出以后则是保卫细胞的蔗糖浓度逐渐提高成为主要渗透物质，在蔗糖调节阶段蔗糖浓度可以将气孔导度和光合作用之间联系起来。在某些实验条件下气孔的张开也可以和钾离子的吸收无关，例如用红光照射分离的叶表皮，气孔开张完全依赖于光合作用产生的蔗糖而没有钾离子的吸收。

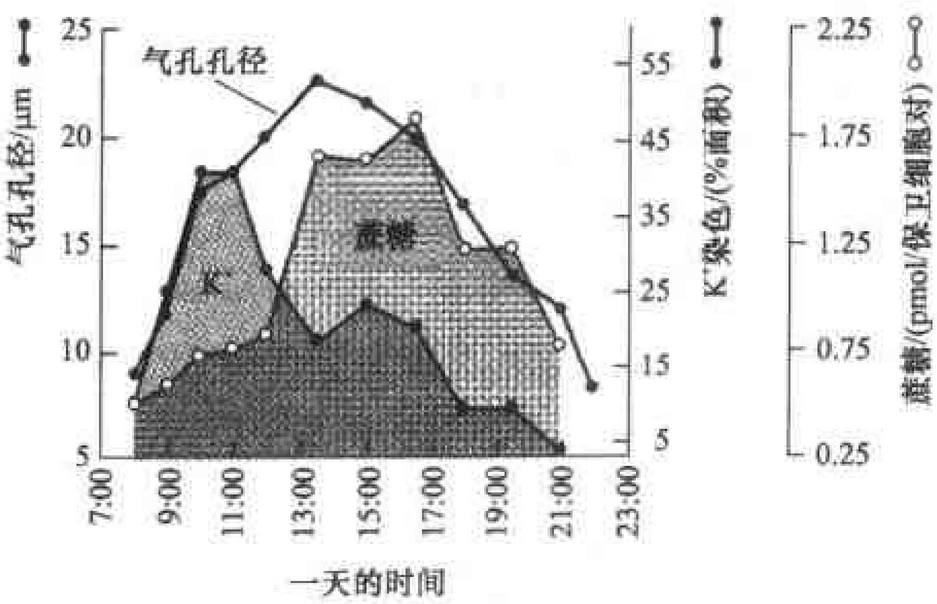



图 3-16　一天中蚕豆完整叶片气孔孔径的变化以及保卫细胞中钾离子和蔗糖浓度的变化 (Taiz & Zeiger　1998)

保卫细胞中调节其膨压的蔗糖可能来自不同的途径，例如，淀粉水解转化产生的蔗糖，保卫细胞叶绿体光合作用生产的蔗糖，以及从质外体中吸收在叶肉细胞中生产的蔗糖。

**3. 植物激素 ABA 对气孔运动的调节**

用微摩尔浓度的植物激素 ABA 处理叶片可以引起气孔的关闭。ABA 对气孔运动，特别是在发

生水分亏缺的情况下有重要的生理功能。有关 ABA 对气孔运动的调节机制将在植物激素一章中介绍。

### （五）水分亏缺时的气孔关闭

植物在水分发生亏缺(例如发生旱情)时往往会通过某种调节方式减少蒸腾以避免脱水死亡。气孔是蒸腾发生的主要通道,因此也是植物调节其蒸腾的主要机制。通过改变气孔的大小和开关来调节蒸腾作用的方式也称为蒸腾作用的气孔调节。

水进出保卫细胞可以引起气孔的打开和关闭,保卫细胞自身也会通过蒸发散失水分,当空气干燥,保卫细胞蒸发过快,而水分的运输不足以补充其水分的散失时,保卫细胞就会关闭,这样的气孔关闭机制称为被动脱水关闭(hydropassive closure)。另一种机制是当整个叶片或根缺水时,保卫细胞可以通过其代谢过程减少细胞内的溶质来提高细胞水势,水分因而离开保卫细胞,气孔关闭,这样的气孔关闭机制称为主动脱水关闭(hydroactive closure)。保卫细胞中溶质的外流可以因植物的缺水而发生,ABA 可能在这个过程起重要的作用。

根系是植物吸收水分的部位,也常是水分亏缺最初发生的部位。植物根系发生水分亏缺也会引起气孔的关闭。研究发现在早期根部发生水分亏缺引起气孔关闭的过程中,有“信息”分子从根向叶传递。将一株植物的根系分开置于两个容器中用营养溶液进行培养,如果将一个容器中的溶液抽去,结果发现植物的气孔发生部分关闭,而此时由于仍有另一半根系可以进行水的吸收因此叶中的细胞并不曾发生水分的亏缺。由此可以认为,在植物的根系有“感知”水分状态的系统,当发生水分亏缺时,可以通过信息传递调节地上部气孔的运动,以适应根系的水分吸收状况。进一步的研究发现,植物根部合成的 ABA 可以随木质部液流向地上部转移。在上述的分根实验中,发现去掉溶液的那部分根中的 ABA 合成量增加;而叶中 ABA 的增加与气孔的关闭程度密切相关。因此 ABA 可能正是根发生水分亏缺时向叶发送的“信息”。

植物的缺水也可以发生在叶片的叶肉细胞,例如当植物蒸腾很快而植物的吸水来不及进行补偿时,或者当旱情严重土壤中水分很少时叶肉细胞都可能发生缺水。叶肉细胞发生水分亏缺会引起气孔的关闭。在植物叶肉细胞中一般总是有低水平的 ABA 合成,所合成的 ABA 在正常情况下累积在叶绿体中。当发生缺水时,叶绿体中的 ABA 就会被释放进入细胞质,而后被释放到质外体空间并随蒸腾流到达保卫细胞,在那里 ABA 使保卫细胞的溶质外流气孔因而关闭。除了 ABA 发生重新分布之外,叶肉细胞中的 ABA 合成也会增加,这样就更促进了气孔的关闭。

从以上我们可以看到,植物在很早时期就可以感知水分亏缺的发生并且作出相应的反应,例如当土壤水分减少上层土壤发生水分亏缺时,虽然此时植物地上部分并未发生水分的亏缺,但仍可使气孔发生部分关闭以减少水分的散失;如果水分亏缺的情况进一步发展,植物地上部分也发生水分亏缺时,植物也会进一步关闭气孔以避免植物脱水死亡。

当水分供应不足或者蒸腾量过大的情况下,叶肉细胞因失水而水势下降,细胞间隙中水蒸气不再饱和,此时即使气孔仍然张开,蒸腾依然难以进行,这种现象称为“初干”。植物通过初干来调节蒸腾作用的方式称为非气孔调节。

## 五、蒸腾的意义

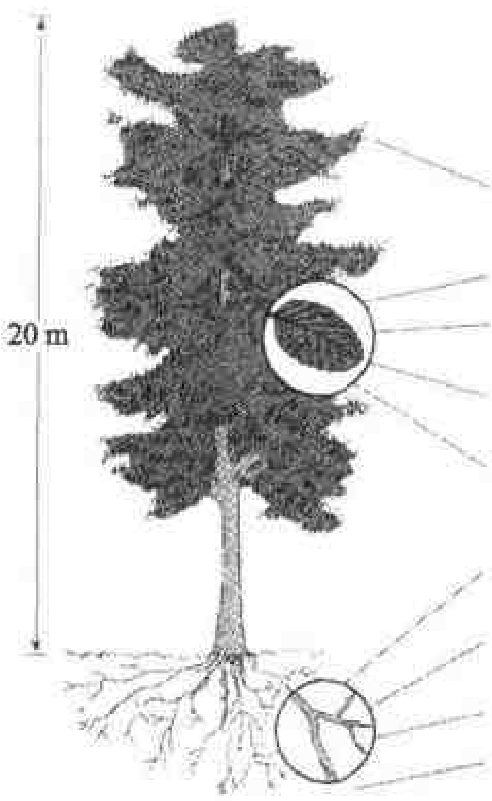
蒸腾的生理作用是个争议较大的问题。虽然有研究者认为蒸腾可能在水分的运输或者矿质元素的运输方面有作用,但是蒸腾作用似乎并非这些过程所必需。例如某些生长在热带雨林高湿度条件下的植物,基本上没有蒸腾作用发生,但是仍然生长得非常茂盛。对矿质元素的跟踪研究也表明,植物可以重复利用自身的矿质元素,蒸腾的减少并不成为矿质营养的限制因子。而且高湿条件似乎对

植物生长更加有利。在多数情况下，蒸腾反而是造成植物发生水分亏缺，甚至脱水的主要原因。因此蒸腾作用也许是陆生植物为解决光合作用吸收 $CO_2$ 的需要而不得不付出的水分散失的代价。在不影响光合作用的前提下，减少蒸腾作用可能更有利于植物的生长。

陆生植物在吸收光能进行光合作用时，叶片的温度会升高。过高的植物叶温会加速植物的呼吸作用，甚至破坏植物的光合系统。蒸腾作用可以通过水分的散失带走大量热能，蒸腾速率较高的叶片其叶温通常总是低于环境温度。这可能是蒸腾作用对植物生理活动的有利方面。

## 第四节　土壤-植物-大气连续体系

在本章中我们讨论了水从土壤到植物体，再从植物体到大气的运动过程。在此，水的运动总是从水势较高的区域向水势较低的区域进行，即从土壤到植物再到大气，形成一个土壤-植物-大气连续体系(soil-plant-atmosphere continuum)，其中水势是以递减的形式分布的(图 3-17)。水在这个体系中依水势梯度的运动基本上是一个降低自由能的自发运动，并不需要能量的输入。




| 位置 | 水势及其组成/MPa | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 水势 | 压力势 | 渗透势 | 重力势 | 水势 |
| 外界空气(相对湿度为50%) | -95.2 | | | | -95.2 |
| 叶间空气 | -0.8 | | | | -0.8 |
| 叶肉细胞细胞壁(10 m处) | -0.8 | -0.7 | -0.2 | 0.1 | |
| 叶肉细胞液泡(10 m处) | -0.8 | 0.2 | -1.1 | 0.1 | |
| 叶木质部(10 m处) | -0.8 | -0.8 | -0.1 | 0.1 | |
| 根木质部(接近表面) | -0.6 | -0.5 | -0.1 | 0.0 | |
| 根细胞液泡(接近表面) | -0.6 | 0.5 | -1.1 | 0.0 | |
| 与根连接的土壤 | -0.5 | -0.4 | -0.1 | 0.0 | |
| 与根距离10mm的土壤 | -0.3 | -0.2 | -0.1 | 0.0 | |

图 3-17　土壤-植物-大气连续体系示意图 (Taiz & Zeiger　1998)

水的运动，随着阶段不同而采用不同的方式。水在土壤和植物体中的运动以集流的方式进行，而从叶向大气运动时则以扩散的方式，水进入植物体时还要涉及跨膜的渗透方式等。但是无论水通过何种方式进行运动，总是遵循沿水势梯度运动的原则。但是，在此运输途径的不同部分中，水势的组成可能会完全不同。例如叶子的叶肉细胞和其附近的木质部的水势是相当接近的，但是在木质部水势的主要成分是负的静水压而叶肉细胞的膨压却是正的压力，叶肉细胞的负水势是由于溶质势决定的。对于大气的水蒸气来说，相对湿度是决定水势的重要因素。

## 小　　结

陆生植物在进行光合作用的同时，不可避免地会散失水分。因此水分的吸收和散失是植物体极为重要的生理活动。植物通过发达的根系从土壤吸收水分。土壤的水分状况直接影响植物的水分吸收。植物根系吸收的水需要通过木质部向上运输到植物体地上各部分。根吸收的水主要通过蒸腾形成的植物体地上部负压将其拉动向上运输。而根压只有在蒸腾很小，运输高度不大的情况下才有一

定的作用。在植物的蒸腾作用中，气孔蒸腾占主导作用。植物通过对气孔运动的调控，协调光合作用需要吸收 $CO_2$ 和水分散失的关系。渗透调节是导致气孔运动的基本机制，而蓝光信号系统在气孔保卫细胞的渗透调节中起重要的作用。

**思考题**

(1) 土壤中的水分状况如何影响植物根的水分吸收？

(2) 水是如何通过植物的根进入植物体的？

(3) 水是通过什么机制经木质部向上运输的？

(4) 何谓蒸腾作用？蒸腾作用有哪些方式？

(5) 什么是气孔复合体？它有哪些类型？气孔如何控制叶片的气体交换？

(6) 有哪些研究证据说明气孔运动的非光合光调节主要是蓝光？

(7) 为什么说叶黄素可能是蓝光的受体？

(8) 有关气孔运动渗透调节的假说有哪些？它们都有哪些研究的证据？

(9) 气孔运动受哪些因素的影响？

# 第四章　植物细胞跨膜离子运输

高等植物的生长发育有赖于构成植物个体的活细胞不断地从土壤、大气、水体等环境中吸收利用各种营养元素，在植物细胞水平上对营养元素的吸收利用过程是植物不断摄取营养元素的基础。植物细胞质膜是细胞与环境之间的空间界限，活细胞对各种营养元素的吸收过程就是这些元素的跨膜运输过程。植物生长发育所必需的各种矿质营养元素（参见第五章）中大部分是以带电离子的形式被植物细胞所吸收利用的，所以了解各种离子跨植物细胞膜的运输机制是学习植物矿质营养（参见第五章）的基础。植物细胞与动物或微生物细胞的跨膜离子运输机制有许多相似之处，也有不同之处，但作为物质运动的一类形式，都遵循物理和化学的基本规律。本章在扼要介绍离子跨膜运输的一些基本知识的基础上，简要地讨论氮、磷、钾、钙等主要营养元素的离子跨膜运输机制，而有关膜生物学以及离子跨膜运输的详细内容请参考相关书籍。

## 第一节　生物膜的物理化学特性

细胞膜是活细胞与环境间进行物质与能量交换的界限。由于活细胞的膜对所通过的各种物质具有严格的选择性及调控机制，才使得细胞质内相对稳定的微环境得以维持。多细胞生物个体的复杂生命活动是以单个细胞为基本单位完成的，而所谓生命活动与非生命活动之间的空间界限正是包裹活细胞的细胞膜。显然，细胞膜的这种"界限"作用对于生命活动的存在和进行是至关重要的。活细胞的膜除了作为生命活动与环境间的空间结构界限外，同时也是执行一系列重要生命活动的场所。有关生物膜的基本化学组成、结构模型等内容已在第一章中介绍，以下仅就与跨膜离子运输相关的生物膜的一些物理、化学特性及其与功能实现的关系进行简单介绍。

### 一、生物膜的化学组成与生物膜的"两亲性"和"绝缘性"

生物膜的基本化学组成包括脂类和蛋白质及少量糖类物质。

构成膜的脂类物质中最主要的是甘油磷脂类物质。这类物质均具有典型的"两亲性"（amphipathic），即分子结构中有"亲水的"（hydrophilic）和"疏水的"（hydrophobic）基团。具有"两亲性"的磷脂类物质在水相中可自发地排列形成脂质双层结构，即两层磷脂类分子的疏水（亲脂）性"尾部"彼此相对，而亲水的"头部"朝向水相，磷脂的脂质双层构成了生物膜的基本结构。如图 4-1 所示，脂质双层结构中间的疏水部分占据了很大空间，这一特点使得疏水性较强或具有两亲性的物质较易通过膜结构，而亲水性的带电物质（如各种离子）通过脂质双层膜时阻力很大。在金属导体中，自由电子的移动形成电流；而在以水相为基础的活细胞或生物体中，带电离子的移动形成电流、并产生生电现象。由于带电离子通过脂质双层膜时阻力很大，所以说脂质双层膜结构具有一定的"绝缘性"。图 4-2 表示水、甘油和几种离子通过人工脂质双层膜或生物膜时的相对通透性。由于甘油是既亲脂又亲水的两性分子，所以较易通过人工膜或生物膜，膜对甘油的相对通透性也就较高。但 $K^+$、$Na^+$、$Cl^-$ 等带电

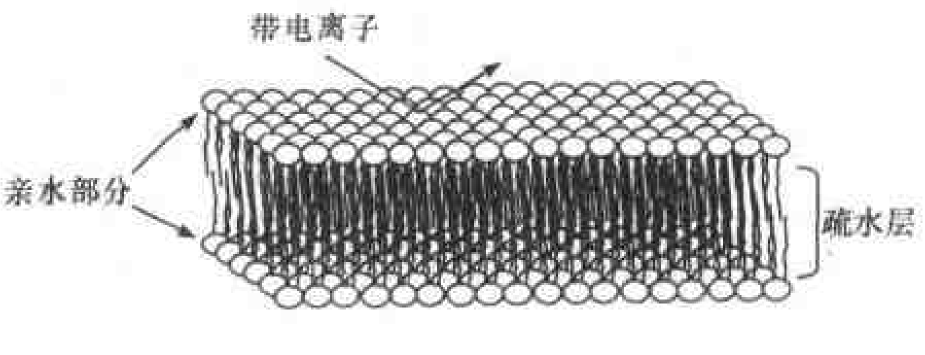



图 4-1　具有强亲水性的带电离子不易通过膜的脂质双层结构

离子具有极强的亲水性，所以几乎很难通过完全由磷脂构成的人工膜(图 4-2 左侧)。而生物膜与人工脂质双层膜相比较，主要区别在于生物膜结构中含有很多种执行离子跨膜运输的功能蛋白，所以生物膜对带电离子的通透性高于人工膜。

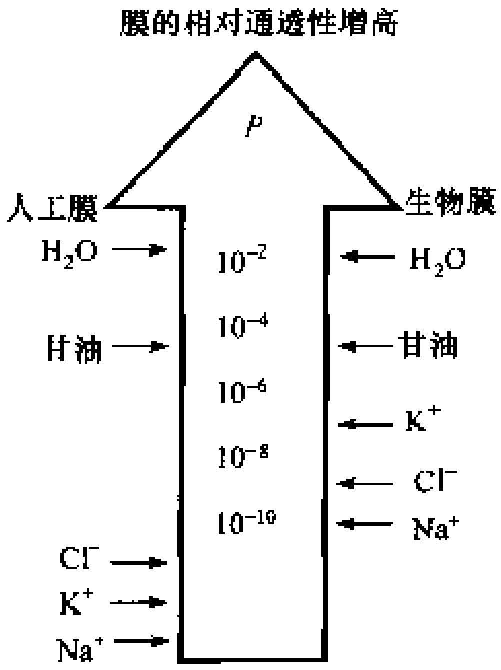



图 4-2 人工膜和生物膜对水分子、甘油及几种常见离子的相对通透性(Taiz & Zeiger 1998)

*P*：膜对溶质的相对通透性，单位为 cm/s。箭头所指方向为通透性增高。

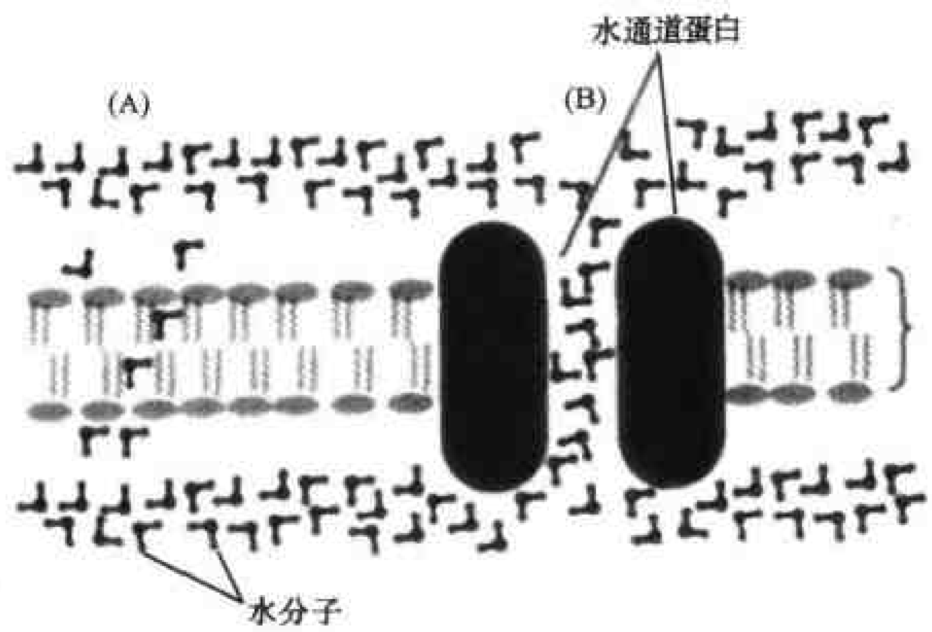



图 4-3 水分子通过生物膜的机制示意图(Taiz & Zeiger 1998)

(A)水分子通过膜脂分子间隙穿过脂质双分子层；(B)水分子通过膜上的水通道蛋白穿过膜结构。

水分子的跨膜运输是一较为特殊的现象，无论人工膜还是生物膜对水分子的通透性都较高，而水分子显然是强极性分子(具有典型的“亲水性”)，理论上讲膜对水分子的通透性应该较低。但一般认为水分子的直径较小，可以以“渗透”的方式顺着水势梯度、自脂质双分子层的分子间隙中通过(图 4-3 A)。同时，生物膜中含有水孔蛋白可增加膜对水分子的通透性(图 4-3 B)。有关水孔蛋白功能的调控的研究将有助于人们对水分跨膜运输机制有进一步的了解，而如何全面准确地解释水分子的跨膜运输调控机制仍需要进一步的研究。

## 二、跨膜电化学势梯度和膜电位

任何物质的运动都需要驱动力的存在，驱使离子进行跨膜运输的动力来自跨膜电化学势梯度(transmembrane electro-chemical potential gradient)或水解 ATP 产生的能量。根据热力学的原理，任何物质的自发运动均是自化学势较高的区域向化学势较低的区域进行。对于不带电的中性分子或粒子来说，其化学势的高低取决于它的浓度高低。因此，在不存在外力作用的情况下，不带电的分子发生运动时总是自浓度高的区域向浓度低的区域自发进行。但对于带电粒子来说，其发生运动时不仅受其浓度高低(化学势高低)的影响，同时还受到不同体系(或区域)间电势高低的影响，亦即受“电化学势梯度”的影响。

某种离子的跨膜电化学势梯度包括跨膜化学势梯度和跨膜电势梯度两个方面，而两者又是相互关联的。因为决定某种离子化学势高低的是离子的浓度，而离子浓度的高低又决定了该种离子所携带电荷的多少，所以在膜的一侧某种离子的浓度愈高，则该种离子的电化学势愈高。

离子在跨膜电化学势的驱动下发生跨膜运动的过程可由图 4-4 和图 4-5 的简化模式图说明。图 4-4 表示出人工半透膜相隔的两相之间的离子跨膜运输过程，由于体系中只存在均可透过半透膜的两种离子，而在起始状态时，A 相两种离子的浓度(或电化学势)高于 B 相两种离子的浓度(或电化学势)，因此对两种离子均存在自 A 向 B、由高向低的电化学势梯度，两种离子均自 A 向 B 发生运动，最

终两相间达到完全平衡。当然，如果半透膜对阴、阳两种离子的通透性(permeability)不同，即阴、阳两种离子的跨膜扩散速度不同，则在中间状态时会产生膜两侧正、负电荷分布不平衡的现象。

图 4-5 所示的模型则较图 4-4 所示模型更接近活细胞的状况，体系中除了存在两种可透过膜的阴、阳离子外，在膜的一侧(假定的细胞内侧)存在一些不可跨膜扩散的阴离子。在活细胞内，伴随不可跨膜扩散的阴离子产生的阳离子往往是质子。在起始状态时，A 相(假定的细胞外侧)阴、阳两种离子的浓度(或电化学势)高于 B 相(假定的细胞内侧)两种相应离子的浓度(或电化学势)，因此对两种离子均存在自 A 向 B、由高向低的电化学势梯度，两种离子均自 A 向 B 发生运动。同时，B 相的质子也向 A 相运动(有关质子跨膜运输的机制请参见本章第二节"质子 ATP 酶"部分)。由于 B 相存在一些不可跨膜扩散的阴离子，结果在最终两相间可跨膜扩散阴、阳离子也不可能达到完全平衡，A 相中可跨膜扩散阴离子的浓度可能高于可跨膜扩散阳离子，而 B 相中可跨膜扩散阳离子的浓度则高于可跨膜扩散阴离子的浓度。

在离子发生跨膜扩散的过程中(如图 4-4 所示)或达到动态平衡时(如图 4-5 所示)，都有可能产生可跨膜扩散的阴、阳离子分布不平衡的状态，这就造成了膜两侧可跨膜扩散的电荷分布的不平衡，表现为膜两侧之间存在跨膜电势(或电位)差。

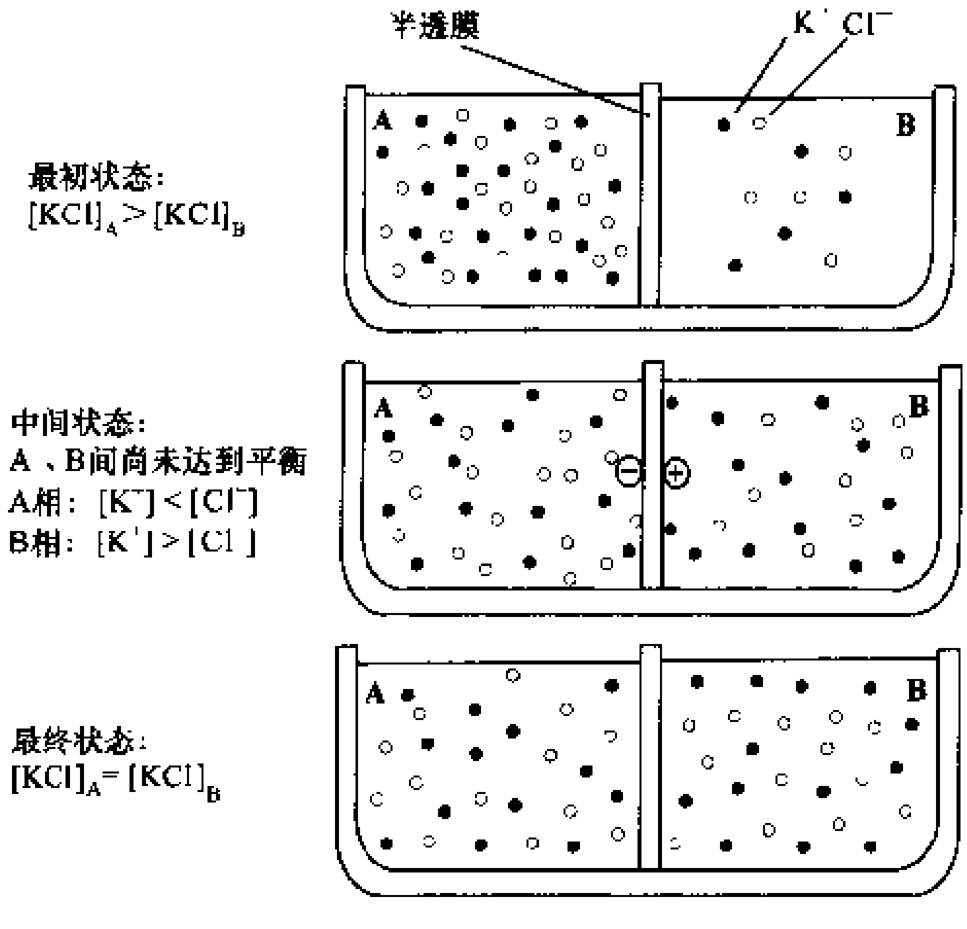



图 4-4 由半透膜相隔的两相(A 与 B)间通过离子的跨膜运输最终达到平衡的过程示意图(Taiz & Zeiger 1998)

假设 $K^-$ 和 Cl 两种离子均可通过半透膜(即半透膜对两种离子均具有一定的通透性)，但半透膜对 $K^+$ 的通透性高于对 $Cl^-$ 的通透性。在起始状态时，A 相两种离子的浓度(或电化学势)高于 B 相两种离子的浓度(或电化学势)，因此对两种离子均存在自 A 向 B、由高向低的电化学势梯度，两种离子均自 A 向 B 发生运动。但由于半透膜对 $K^+$ 的通透性高于对 $Cl^-$ 的通透性，所以 $K^+$ 的自 A 向 B 的跨膜移动速率高于 $Cl^-$ 的跨膜运动，结果造成了如图中"中间状态"所示的 B 相中 $K^+$ 的浓度高于 $Cl^-$ 的浓度(正电荷多于负电荷)，而 A 相中 $K^+$ 的浓度低于 $Cl^-$ 的浓度(正电荷少于负电荷)。但在跨膜电化学势梯度的驱动下，最终两相间达到完全平衡。

在将压力、重力加速度等因素忽略不计的情况下，某一体系中某种离子 n 的电化学势可定量描述为：

$$\mu_n = \mu_n^0 + RT \ln a_n + z_n FE \tag{4.1}$$

式中：$\mu_n$代表离子 n 的电化学势；$\mu_n^0$代表标准状态下离子 n 的电化学势；$R$ 表示气体常数；$T$ 表示热力

学温度；$a_n$代表离子 n 的相对活度；$z_n$代表离子 n 所带电荷数(带正电用正数表示，带负电用负数表示)；$F$ 代表法拉第常数；$E$ 表示离子 n 所处体系的电势。

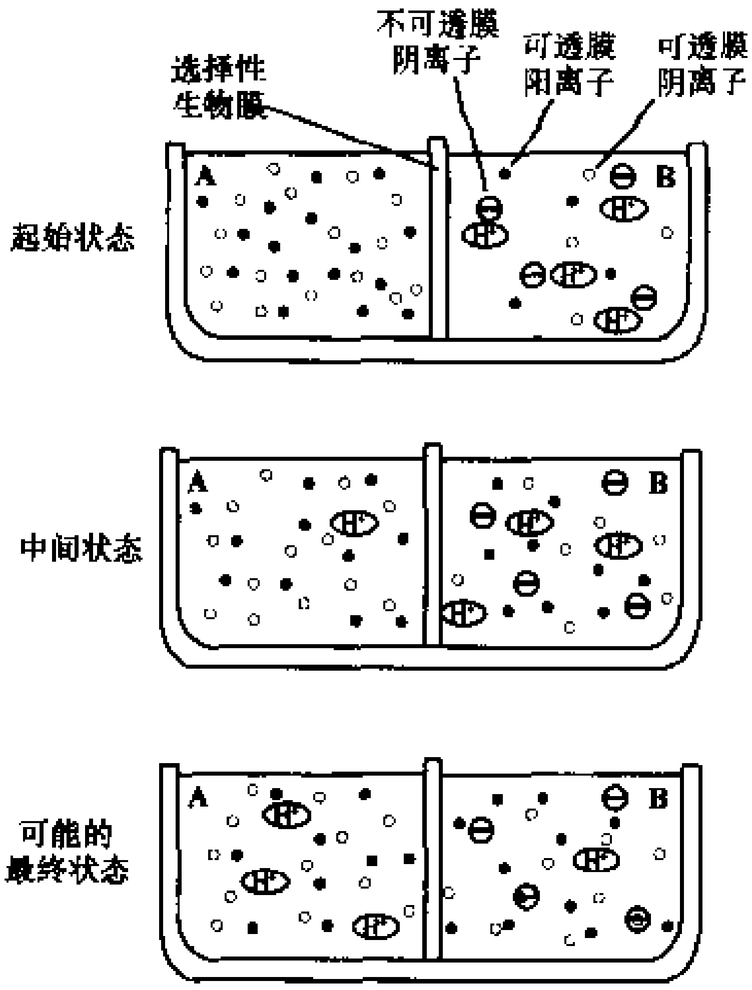



图 4-5 由选择性生物膜相隔的膜外侧(A)与膜内侧(B)两相间的离子跨膜运输过程示意图

假设 A(细胞外)、B(细胞内)两相间由选择性生物膜相隔，且阴、阳两种离子均可通过半透膜(即半透膜对两种离子均具有一定的通透性)，而在 B 相存在一些不可透过膜的所谓"不可扩散"阴离子及与其相伴随产生的阳离子(质子)。在起始状态时，A 相阴、阳两种离子的浓度(或电化学势)高于 B 相两种相应离子的浓度(或电化学势)，因此对两种离子均存在自 A 向 B、由高向低的电化学势梯度，两种离子均自 A 向 B 发生运动。同时，质子也会发生自 B 向 A 的扩散。由于 B 相存在一些不可扩散的阴离子，结果在最终两相间可扩散阴、阳离子也不可能分别达到完全平衡，A 相中可扩散阴离子的浓度可能高于可扩散阳离子，而 B 相中可扩散阳离子的浓度则高于可扩散阴离子的浓度。

仍以图 4-4 或图 4-5 所示的模型为例，A 相相对于 B 相之间某种可跨膜扩散的离子 n 的跨膜电化学势差可定量地描述为：

$$\Delta\mu_n = \mu_n{}^A - \mu_n{}^B = RT\ \ln(a_n{}^A / a_n{}^B) + z_nF(E_A - E_B) \tag{4.2}$$

也可表示为：

$$\Delta\mu_n = \mu_n{}^A - \mu_n{}^B = RT\ \ln(a_n{}^A / a_n{}^B) + z_nF\Delta E \tag{4.3}$$

## 三、能斯特方程和跨膜电位

在式 4.3 中，当 $\Delta\mu_n>0$ 时，表示 A 相 n 离子的电化学势大于 B 相 n 离子的电化学势，存在推动离子 n 自 A 向 B 跨膜进行扩散的跨膜电化学势梯度，此时：$\Delta E>-\frac{RT}{Z_nF}\ln(a_n{}^A/a_n{}^B)$；

当 $\Delta\mu_n<0$ 时，表示 B 相 n 离子的电化学势大于 A 相 n 离子的电化学势，存在推动离子 n 自 B 向 A 跨膜进行扩散的跨膜电化学势梯度，此时：$\Delta E<-\frac{RT}{Z_nF}\ln(a_n{}^A/a_n{}^B)$；

而当 $\Delta\mu_n=0$ 时，n 离子在 A、B 两相间的跨膜扩散运动处于动态平衡(即无净的 n 离子的跨膜运动)，此时：

$$\Delta E = -\frac{RT}{Z_nF}\ln(a_n{}^A/a_n{}^B) \tag{4.4}$$

式 4.4 就是著名的能斯特方程(Nernst Equation),用以定量描述离子 n 在 A、B 两体系间形成的扩散电位。由于在 $\Delta\mu_n = 0$ 的情况下,在 A、B 两体系间无净的离子 n 的运动,所以又称式 4.4 中的 $\Delta E$ 为两体系间离子 n 的静息电势差(或静息电位)。如果 A、B 两体系由图 4-4 或图 4-5 的选择性半透膜相隔离,$\Delta E$ 又被称作跨膜静息电位。由式 4.4 可知,由某种离子在膜两侧的不平衡分布所产生的跨膜电位的大小及方向取决于该种离子在膜两侧的活度,即膜电位的绝对值与膜两侧该种离子活度比值的对数成正比。应该注意的是,跨膜电位(transmembrane potential)是有方向性的。如在上式推导过程中,$\Delta E$ 代表的是($E_A - E_B$),即 A 相相对于 B 相的膜电位。在表述活细胞的膜电位时,一般用膜内侧(细胞内)相对于膜外侧(细胞外)的电位来表示。例如,一活细胞的胞内 $K^+$ 浓度为 100 mmol/L,胞外 $K^+$ 浓度为 1 mmol/L,在 25℃时,根据能斯特方程计算的胞内相对于胞外的 $K^+$ 的跨膜扩散电位约为 −118 mV(毫伏)。一般来讲,植物活细胞质膜的跨膜电位为负值。而且习惯上所说的膜电位高低是指膜电位的绝对值,如将 −120 mV 的跨膜电位和 −100 mV 的跨膜电位相比较,习惯上说前一膜电位较高,但准确的说法应该是前者较后者更负。

用能斯特方程定量描述的跨膜电位是指某种离子的跨膜扩散电位,而活细胞的细胞质内则含有各种不同的离子。显然,仅依某种离子的胞内外活度数值、用能斯特方程计算出的活细胞跨膜电位数值与实际的跨膜电位数值会有所不同。如果在计算膜电位时考虑多种不同离子对跨膜电位的贡献,则应该用 Goldman-Hodgkin-Katz (GHK) 方程进行计算(有关内容请参考相关书籍和文献)。

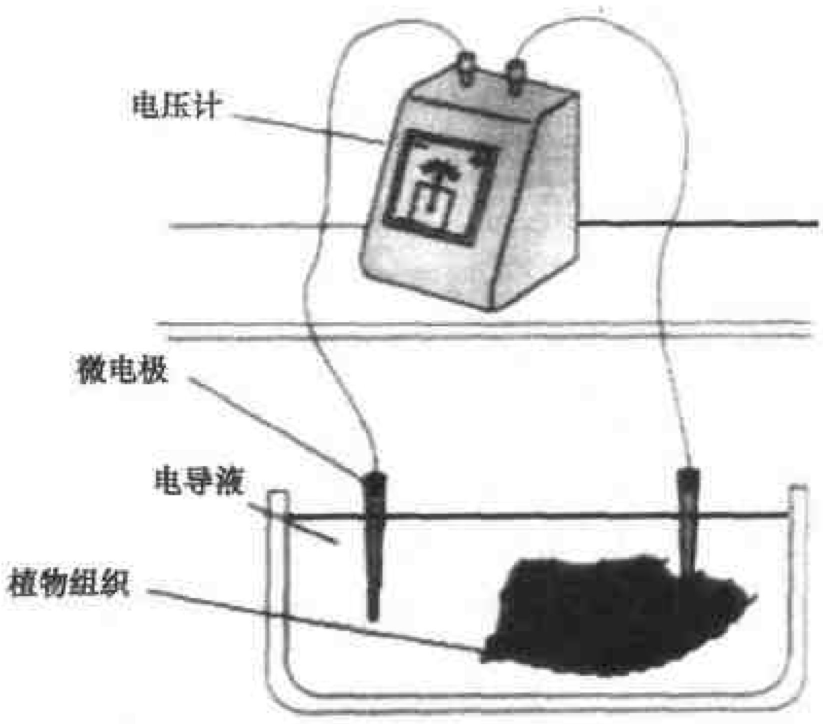



图 4-6 植物细胞膜电位测定示意图

(Taiz & Zeiger 1998)

用于膜电位测定的两个微电极之一插入胞内,另一个置于浸泡植物组织的溶液(电导液)。如果插入胞内的微电极的尖端位于细胞质,测得的电位反映胞质与质膜外环境间的电位差。如果微电极插入液泡内,则观测到的电位为液泡内环境与胞外环境之间的电位差。

图 4-6 表示活细胞膜电位的基本测定方法。利用输入阻抗较高(如大于 $1\times10^{10}\,\Omega$)的电压计或放大器可以很方便地实际测量活细胞的膜电位。

对于许多类型的高等植物活细胞,实际测量得到的跨膜电位与利用被测细胞内外钾离子浓度根据能斯特方程计算得到的膜电位的数值十分相符。如表 4-1 列出了豌豆根细胞内外各种离子浓度的预期值和实际观测值,根据实际观测的细胞内外钾离子浓度和能斯特方程计算出的跨膜电位大约为 −108 mV(假定温度为 25℃),而实际测量得到的跨膜电位为 −110 mV。因此,对于许多植物细胞,可以根据细胞内外钾离子浓度的数值估算跨膜电位。

**表 4-1 豌豆根细胞内各种离子浓度的预期值和实际观测值的比较**(Taiz & Zeiger 1998)

| 离子种类 | 胞外浓度/(mmol/L) | 胞内浓度/(mmol/L) | |
|---|---|---|---|
| | | 预期值 | 实际观测值 |
| $K^+$ | 1 | 74 | 75 |
| $Na^+$ | 1 | 74 | 8 |
| $Mg^{2+}$ | 0.25 | 1340 | 3 |
| $Ca^{2+}$ | 1 | 5360 | 2 |
| $NO_3^-$ | 2 | 0.0272 | 28 |
| $Cl^-$ | 1 | 0.0136 | 7 |
| $H_2PO_4^-$ | 1 | 0.0136 | 21 |
| $SO_4^{2-}$ | 0.25 | 0.000 05 | 19 |

注:测量的膜电位为 −110mV。

跨膜电位形成的本质是电荷在膜两侧的分布不均匀，而且膜对这些不均匀分布的电荷载体（离子）有一定的通透性。处于膜两侧的不均匀分布的任何一种离子都有自电化学势较高的一侧向电化学势较低的另一侧进行扩散运动的趋势，因此活细胞的膜电位有时也被称为扩散电位。对于活细胞来说，由于膜对不同离子的选择透性不同，因此在达到扩散平衡时就可能会出现如图 4-5 所示的情况，即一些离子在膜两侧的分布不均匀。这是膜电位形成的原因之一。而使细胞跨膜电位产生并得以维持的另一原因在于，膜上存在能消耗 ATP 能量而运送带电离子的所谓离子泵蛋白（参见第二节），而被运送的带电离子是逆着该种离子的电化学势梯度进行的。植物细胞中最典型的离子泵是 $H^+$-ATP 酶（参见第二节），此类 $H^+$ 泵的作用是将 $H^+$ 从膜的一侧运向另一侧，结果使膜两侧的电荷分布不均，因此也被称作致电泵（electrogenic pump）。

活细胞的跨膜电位是研究细胞生理活动的重要指标或参数之一。细胞膜的“超极化”和“去极化”是两个用膜电位为指标描述细胞膜或细胞生理状态的重要概念。所谓“超极化”（hyperpolarization）是指跨膜电位处于较原来的参照状态（如静息状态）下的跨膜电位更负（膜电位的绝对值更高）的状态，如膜电位由－80 mV 变为－120 mV，就可表述为细胞膜发生了超极化。反之，“去极化”（depolarization）是指跨膜电位处于较原来的参照状态下的跨膜电位更正（膜电位的绝对值较低）的状态，如膜电位由－120 mV 变为－80 mV，就可表述为细胞膜发生了去极化。就一般情况而言，活细胞处于超极化状态时，细胞的整体生理活动较为活跃。例如，叶肉细胞在黑暗条件下不进行光合作用时，细胞的跨膜电位大多在－60 mV 至－100 mV 之间；但处于光照条件下后，细胞的光合代谢活动开始进行，细胞的跨膜电位迅速发生超极化而达到－160 mV 左右（有些植物叶肉细胞的跨膜电位在光照条件下甚至可达－200 mV）。处于旺盛生长发育状态的细胞的膜电位较已经成熟或完成分化的细胞膜电位更负一些，如根尖、茎尖分生组织细胞的膜电位多处于相对于静息状态的超极化状态。

## 第二节　细胞膜结构中的离子跨膜运输蛋白

1972 年由 Singer 和 Nicolson 提出了生物膜的“流动镶嵌结构模型”，即由脂质分子构成的双层膜基本结构具有一定的流动性，而在脂质双层膜结构中镶嵌着许多功能蛋白。镶嵌在生物膜中的大量功能蛋白中执行离子跨膜运输过程的功能蛋白统称为离子跨膜运输蛋白或离子运载体（ion transporter）。根据跨膜离子运输蛋白的结构及运送离子发生跨膜运输的方式，一般将跨膜离子运输蛋白分为离子通道（ion channel）、离子载体（ion carrier）、离子泵（ion pump）三类（图 4-7）。

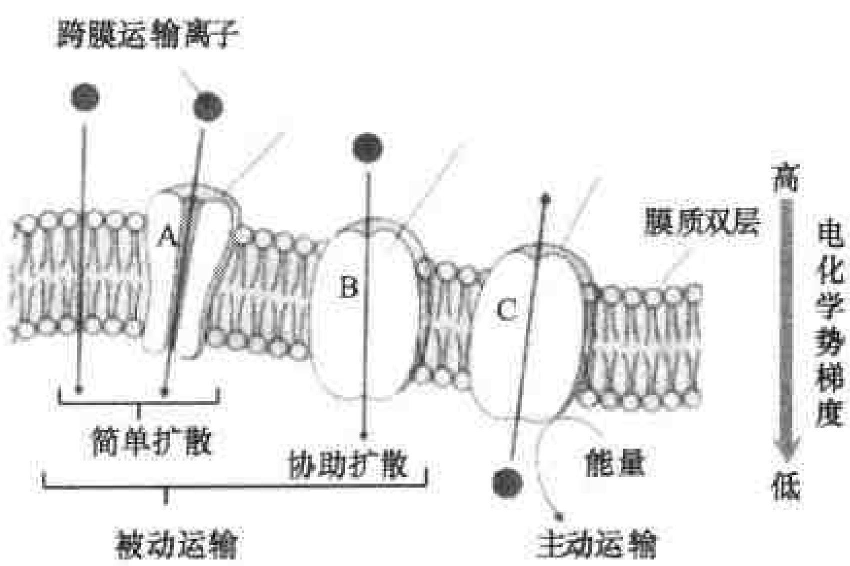



图 4-7　三类离子跨膜运输蛋白示意图

（Taiz & Zeiger　1998）

A. 离子通道蛋白；B. 离子载体蛋白；C. 离子泵蛋白。

### 一、离子通道

离子通道是由多肽链中的若干疏水性区段在膜的脂质双层结构中形成的跨膜孔道结构。根据离子通道对离子的选择性、运送离子的方向、通道开放与关闭的调控机制等可将离子通道分为多种类型。如可选择性地运输钾离子的通道被称为钾离子通道；如果该通道只是将钾离子自胞外向胞内运输，则将其称为内向钾离子通道。如果某种离子通道的开放或关闭是受跨膜电位所调控的，则称该种通道为电压门控通道。当离子通道处于开放状态时，相应的离子顺着跨膜电化学势梯度进行跨膜运动。在植物细胞中研究较多的是各种钾离子通道，

其次是 $Cl^-$ 离子等阴离子通道，而对 $Ca^{2+}$ 离子通道的研究较少，特别是在分子生物学水平对 $Ca^{2+}$ 离子通道的研究几乎尚未开展。

图 4-8 为植物细胞内向钾通道 AKT1 的结构模型示意图，AKT1 多肽链中有 6 个疏水区段（S1～S6）构成了该内向钾通道的基本结构。AKT1 中 S5 和 S6 区段是该通道孔道区域的主要结构；S4 疏水区段含有带正电荷的氨基酸（赖氨酸和精氨酸），构成了通道的电压感受器（voltage sensor），当跨膜电压适宜于通道开放时，S4 响应跨膜电位使通道蛋白发生构象变化而使通道开放。

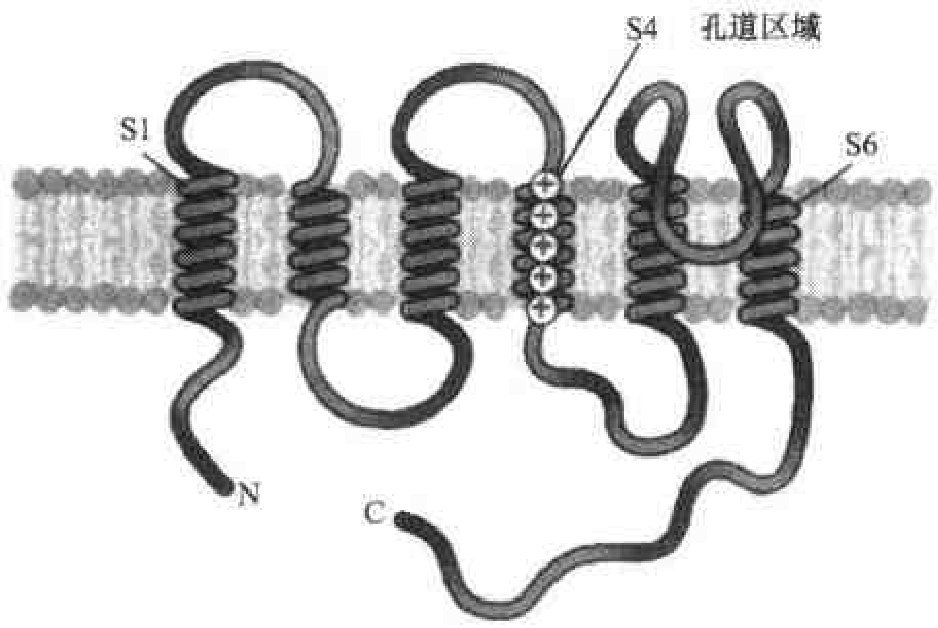



图 4-8 内向 $K^+$ 通道 AKT1 结构模型示意图
（Buchanan et al. 2000）

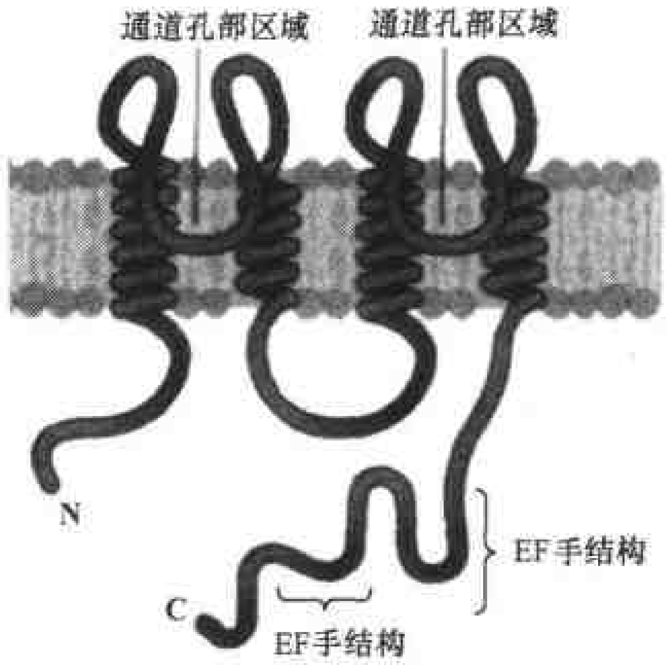



图 4-9 外向 $K^+$ 通道 KCO1 结构示意图
（Buchanan et al. 2000）
包含 4 个跨膜区域和 2 个通道孔部区域。C 端有 2 个 EF 手结构，为 $Ca^{2+}$ 高亲和性结合区域。

图 4-9 为外向钾通道 KCO1 的结构模型示意图，KCO1 有 4 个跨膜疏水区段和 2 个孔道区域。KCO1 肽链的 C 端 2 个 EF 手结构形成对 $Ca^{2+}$ 的高亲和性结合位点，KCO1 是受 $Ca^{2+}$ 激活的通道。

图 4-10 为电压门控型离子通道的结构模型示意图。由带正电荷的氨基酸构成"门控结构"，门控结构在膜电位的调控下控制通道蛋白的构象变化而使通道开放或关闭。通道的选择性过滤结构则使通道对被运送离子有选择性。对于一些受胞内特殊调节因子（如 cAMP 或其他核苷酸、激素、$Ca^{2+}$ 等）调控的离子通道，调节因子特异性地与通道的调节亚基或特异性氨基酸序列相结合而调控通道的活性。

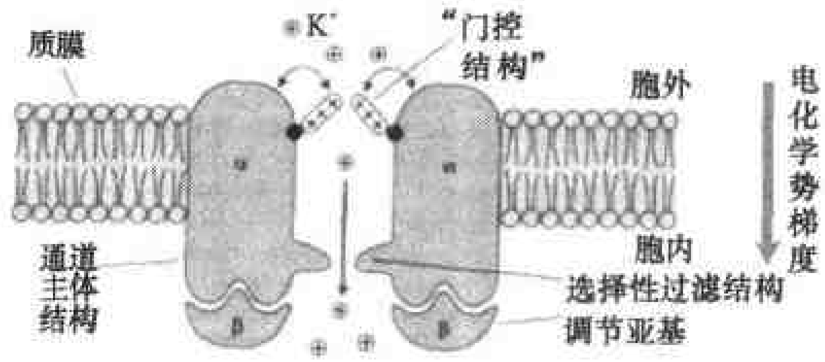



图 4-10 电压门控 $K^+$ 通道模型示意图
（Taiz & Zeiger 1998）

## 二、离子载体

离子载体与离子通道首先在结构上有明显不同，虽然两类膜蛋白都有若干疏水的跨膜结构区域，但离子载体蛋白的跨膜区域并不形成明显的孔道结构。离子载体与离子通道在跨膜运送离子的方式上也不同，前者是先与被运送的离子（或溶质）相结合，通过载体蛋白的构象变化而将离子（或溶质）自膜的一侧运至另一侧；而通过离子通道的离子跨膜运输则是直接通过孔道结构而进行跨膜运动。离子载体可分为执行离子被动运输的载体和执行离子主动运输的载体两类，后者即离子泵（有关主动运输、被动运输见下面内容）。由于离子载体在运送离子或溶质时首先要与被运送的离子或溶质结合，

因此其运行方式类似于酶促反应过程，其动力学符合用于描述酶促反应的米氏方程式。如图 4-11 所示，当被运送的离子或溶质的浓度较高时，离子载体运送离子或溶质的速率表现出饱和效应。离子载体运送离子进行跨膜运输的过程可由图 4-12 说明，溶质(图中的"S")先自膜的一侧与相应的载体结合，载体蛋白通过其构象变化将与其结合的溶质在膜的另一侧释放。

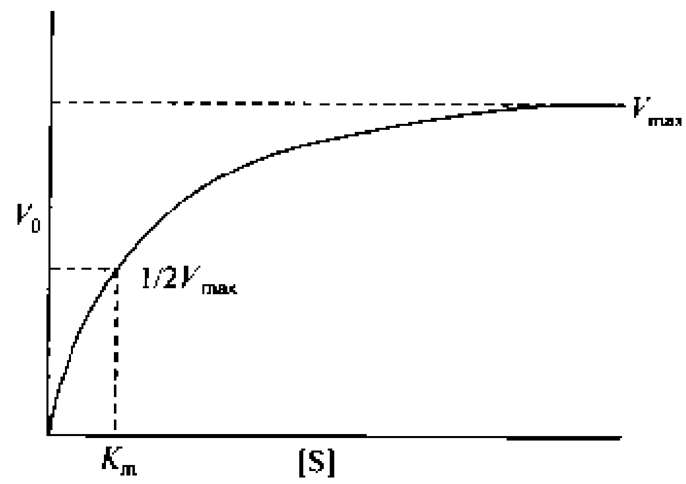



图 4-11 通过载体的离子跨膜运输动力学 (Buchanan et al. 2000)

当被运送的底物(S)的浓度较高时，离子载体运送离子或溶质的速率表现出饱和效应，即转运速率达到最高($V_{max}$)；当转运速率达到最高速率的一半时($\frac{1}{2}V_{max}$)相对应的底物浓度为米氏常数($K_m$)。

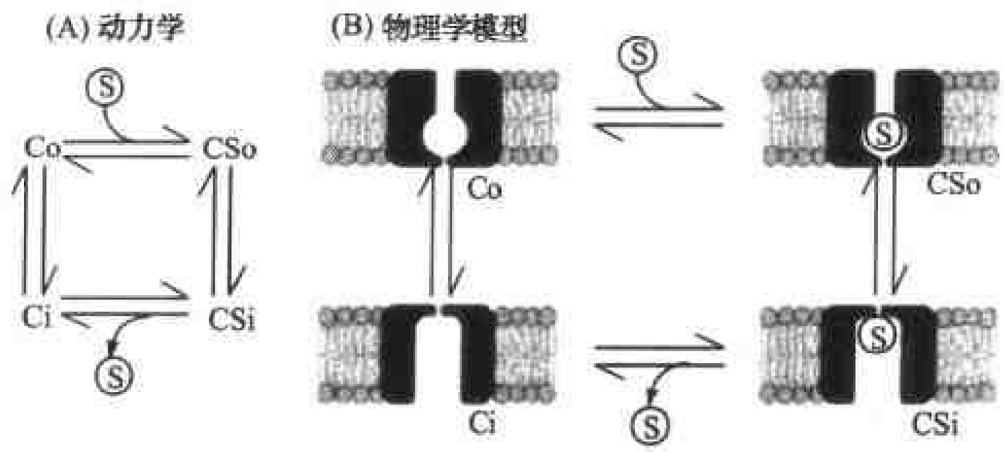



图 4-12 离子通过载体自膜的一侧被运送到膜的另一侧的过程示意图(Buchanan et al. 2000)

多数植物所必需的矿质营养元素是以离子的形式经植物细胞质膜上的离子载体运送进入细胞的，如 $NH_4^+$、$NO_3^-$、$H_2PO_4$、$SO_4^{2-}$ 等，部分 $K^+$、$Cl^-$ 等离子除了经离子通道运输外，也可经离子载体进行跨膜运输。除了无机离子外，一些呈离子状态的有机代谢物的跨膜运输也是经离子载体执行其跨膜运输的，如一些氨基酸、有机酸等。

根据对模式植物基因组的分析表明，膜上的各种载体蛋白(包括运送有机小分子物质的载体)可分为若干超基因家族，每个超基因家族又可进一步分为多个基因家族(表 4-2)。据目前的研究结果，载体多为单个亚基构成，大部分含有 12 个跨膜区域，分子质量约为 40～50 kDa。

**表 4-2 拟南芥中各种跨膜运输蛋白分类一览表**

| 中文名称 | 英文名称 | 基因家族数量 | 基因数量 |
|---|---|---|---|
| ATP 结合跨膜运输复合体 | ABC transporter | 8 | 94 |
| 反向运转载体 | antiporter | 13 | 70 |
| 水孔蛋白 | aquaporin | 2 | 35 |
| 无机溶质共运转载体 | inorganic solute cotransporter | 16 | 84 |
| 离子通道 | ion channel | 7 | 61 |
| 有机溶质共运转载体 | organic solute cotransporter | 35 | 279 |
| 泵(ATP 酶) | primary pump(ATPase) | 12 | 83 |
| 氨基酸/生长素通透酶 | amino acid/auxin permease (AAAP) | 1 | 43 |
| 主要内在蛋白 | major intrinsic protein (MIP) | 1 | 38 |

## 三、离　子　泵

上面已经提到，严格地讲，离子泵也是离子载体的一种，只是其运送离子的能量来源于水解 ATP，而且被运送离子是逆着其电化学势进行的。因此，离子泵实际上是一些具有 ATP 水解酶功能、并能利用水解 ATP 的能量将离子逆着其电化学势梯度进行跨膜运输的膜载体蛋白。根据离子泵活

动对膜电位的影响又可将其分为致电离子泵(electrogenic pump)和中性离子泵(electroneutral pump),前者可以导致有净电荷的跨膜运动,而后者则不改变膜两侧的电荷分布状况。在高等植物细胞中,质膜上的 $H^+$-ATP 酶(P 型 $H^+$-ATP 酶)是最普遍、且最重要的致电泵。图 4-13 示植物细胞质膜上 $H^+$-ATP 酶的结构模型。图 4-14 示离子泵跨膜运送离子的大致过程。在植物细胞中,位于质膜和液泡膜上的质子泵依赖消耗 ATP 能量建立跨膜质子电化学势梯度,而此跨膜质子电化学势梯度是推动各种离子和小分子代谢产物进行跨膜运输的动力。换言之,如果这些 $H^+$-ATP 酶停止工作,则其他大部分离子跨膜运输过程都将会受阻。因此,有人甚至将植物细胞膜上的 $H^+$-ATP 酶称做"主

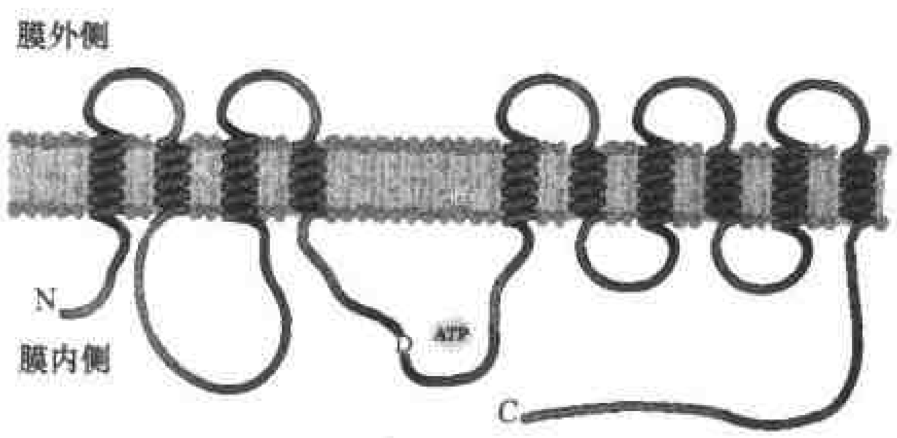



图 4-13 植物细胞膜质子 ATP 酶结构式意图
(Buchanan et al. 2000)

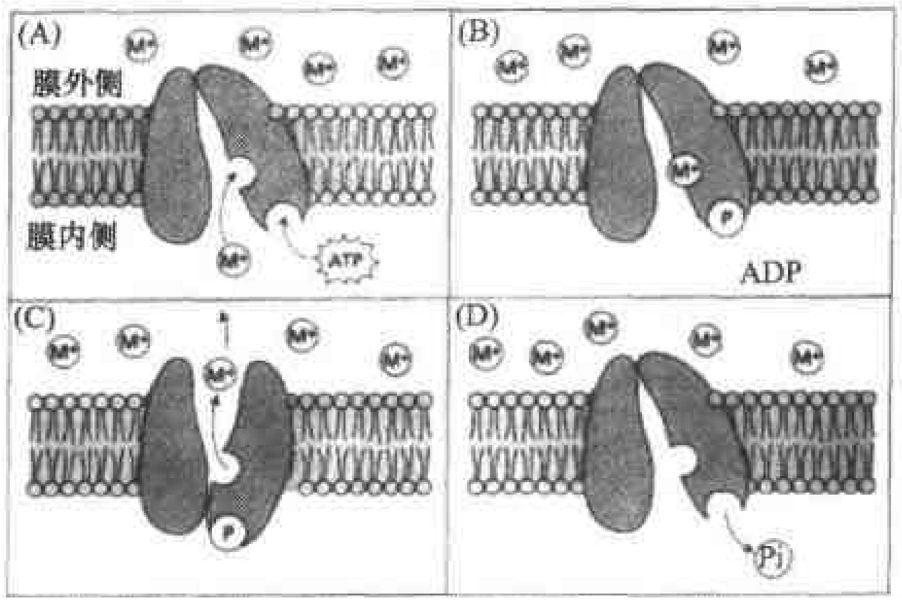



图 4-14 离子泵跨膜运输离子的过程示意图
(Taiz & Zeiger 1998)
(A-B)ATP 与 $M^-$ 在膜内侧结合;(C)离子泵通过构型变化在膜外侧释放 $M^-$;(D)离子泵构型复原;在膜内侧释放 Pi。

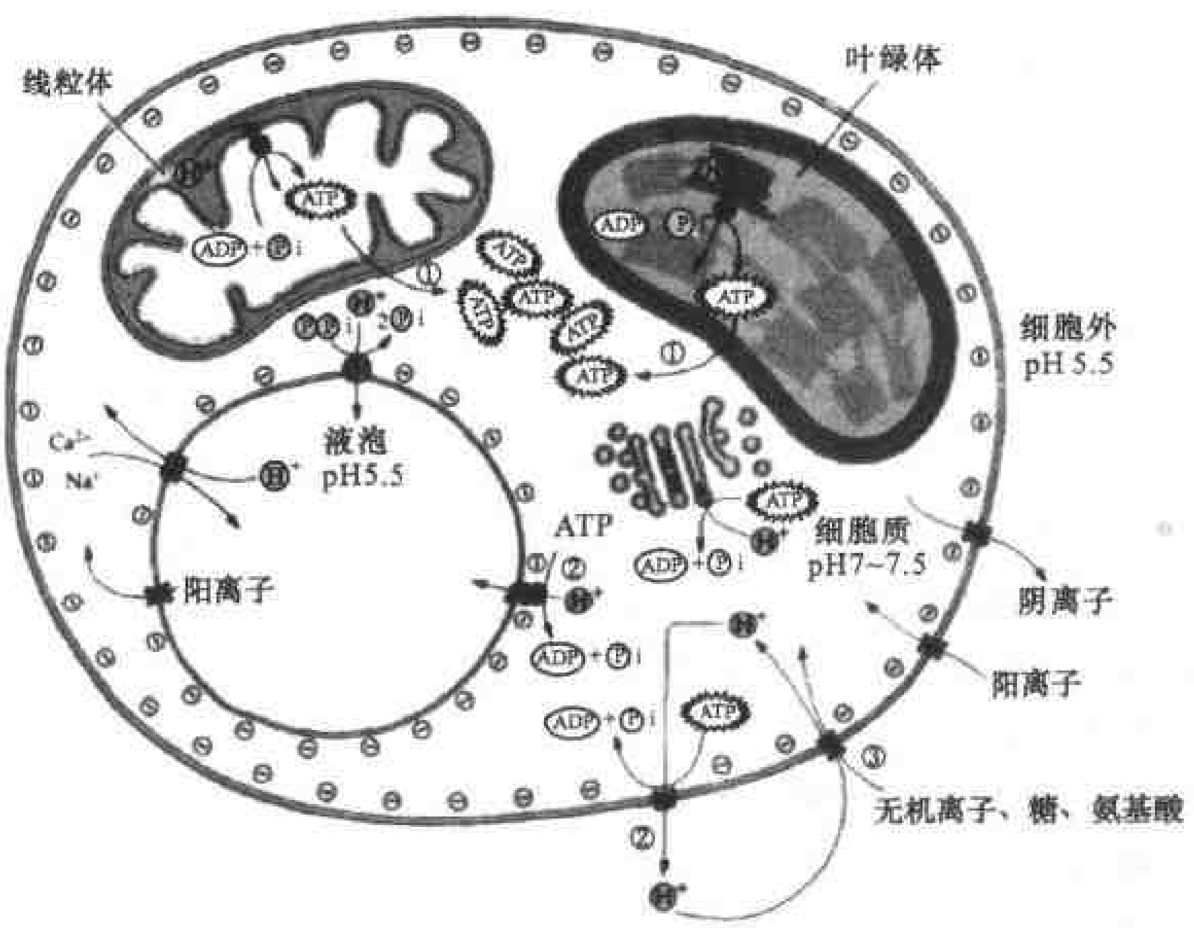



图 4-15 植物细胞内 ATP 的合成、质子泵消耗 ATP 建立跨膜质子电化学势示意图
(Buchanan et al. 2000)
在叶绿体与线粒体中,贮存在跨膜质子梯度中的能量推动 ATP 的合成(①)。位于质膜和液泡膜上的质子泵依赖消耗 ATP 能量建立跨膜质子电化学势梯度(②);由质子泵消耗 ATP 建立的跨膜质子电化学势梯度是推动各种离子和小分子代谢产物进行跨膜运输的动力(③)。

辛酶"，图 4-15 示 $H^+$-ATP 酶与植物细胞内 ATP 合成、其他物质的跨膜运输的关系。植物细胞膜上的 $H^+$-ATP 酶有三类，一类是位于质膜上的 P 型 $H^+$-ATP 酶，另一类是主要存在于液泡膜上的 V 型 $H^+$-ATP 酶，第三类是存在于线粒体内膜和叶绿体类囊体膜上的 F 型 $H^+$-ATP 酶（参见第六、七、八章）。P 型 $H^+$-ATP 酶将 $H^+$ 自细胞质泵至胞外，使质膜两侧的 $H^+$ 维持 1～2 个数量级的浓度差（即 1～2 个 pH 单位）。V 型 $H^+$-ATP 酶将 $H^+$ 自细胞质泵至液泡内等内膜系统，使液泡膜两侧的 $H^+$ 维持 2 个数量级左右的浓度差（即 2 个左右 pH 单位）。因此，一般植物活细胞细胞质的 pH 在 7 左右，胞外质外体环境的 pH 在 5～6 之间，而液泡内的 pH 则在 5 左右或更低（图 4-15）。

迄今为止，在植物细胞上所确认的离子泵包括质膜上的 $H^+$-ATP 酶和 $Ca^{2+}$-ATP 酶、液泡膜上的 $H^+$-ATP 酶和 $Ca^{2+}$-ATP 酶，以及内膜系统上的 $H^+$-焦磷酸酶（依赖水解焦磷酸获取能量来跨膜运送质子）。需要特别指出的是，以往国内有关教材或参考书中提到的植物细胞的 $K^+$ 泵、$Na^+$ 泵、或 $K^+/Na^+$ 泵可能是参考了动物细胞的情况，至少到目前为止在植物细胞中还无确切的实验证据表明这些离子泵的存在。

对拟南芥全基因组序列的分析表明，根据目前能够初步判断的可能编码执行离子及各种小分子有机物跨膜运输蛋白的基因有近 800 种（表 4-2），估计随着人们对更多基因功能的了解，这一数字还会有较大增加。

## 第三节　植物细胞的离子跨膜运输机制

根据离子跨膜运输是否与能量的消耗相偶联以及发生跨膜运输的离子的运动方向与该种离子的电化学势梯度方向的关系，可将离子跨膜运输大致分为两大类，即被动运输（passive transport）和主动运输（active transport）。

### 一、被动运输

在离子的被动运输过程中，离子的跨膜运输并不直接消耗水解 ATP 的能量，而且离子运动的方向是顺着跨膜电化学势梯度进行的。离子通过离子通道的跨膜运输就是被动运输过程，当某种离子的通道处于开放状态、且跨膜存在能使该种离子发生运动的驱动力（电化学势梯度）时，离子就通过其通道发生运动。由于这种离子跨膜运输方式相对较为简单，有时被认为是一种类似于简单扩散（simple diffusion）的离子运动方式。但实际上当离子通过通道时是经过被选择的，即所谓离子通道是选择性通道。不同的离子通道对不同离子的选择性或选择能力有所不同，有的离子通道对所通过离子种类的选择性极强，只允许单一种类的离子通过；而有的离子通道对所通过离子种类的选择性较弱，可能允许一种以上带同种电荷的离子通过。在植物细胞膜上还存在一些受机械伸张激活的离子通道，此类通道一旦被激活，几乎没有什么选择性，可允许多种离子迅速通过，如参与快速运动过程的一些细胞（如含羞草等的叶枕细胞）多有此类通道。

有些离子的被动跨膜运输是通过载体进行的，此类运输机制也被称作协助扩散（facilitated diffusion），意为离子通过膜的被动扩散是在载体的协助下完成的。相对于通过离子通道的离子跨膜被动运输过程，通过载体的离子被动运输速度要慢得多。

### 二、主动运输

在离子的主动运输过程中，离子的跨膜运输与消耗水解 ATP 的能量相偶联，而且被运送离子运动的方向是逆着该种离子的跨膜电化学势梯度进行的。离子通过离子泵的跨膜运输就是主动运输过程，如质膜上或液泡膜上的 $H^+$-ATP 酶运送质子进行跨膜运输的过程就是典型的主动运输过程。植

物细胞膜上由 $H^+$-ATP 酶所执行的主动运输过程又被称作初始主动运输(primary active transport)。而由 $H^+$-ATP 酶活动所建立的跨膜质子电化学势梯度所驱动的其他无机离子或小分子有机物质的跨膜运输过程被称为次级主动运输(secondary active transport)。图 4-16 表示次级主动运输的过程。次级主动运输实际上是一种共运输(co-transport)过程，即两种离子同时被跨膜运输的过程。图 4-15 中的②与③间的关系表示了初始次级主动运输与次级主动运输间的关系，前者直接依赖水解 ATP 而获取所需能量，后者则依赖由前者所建立的跨膜质子电化学势梯度将某种溶质逆着电化学势梯度进行运输。

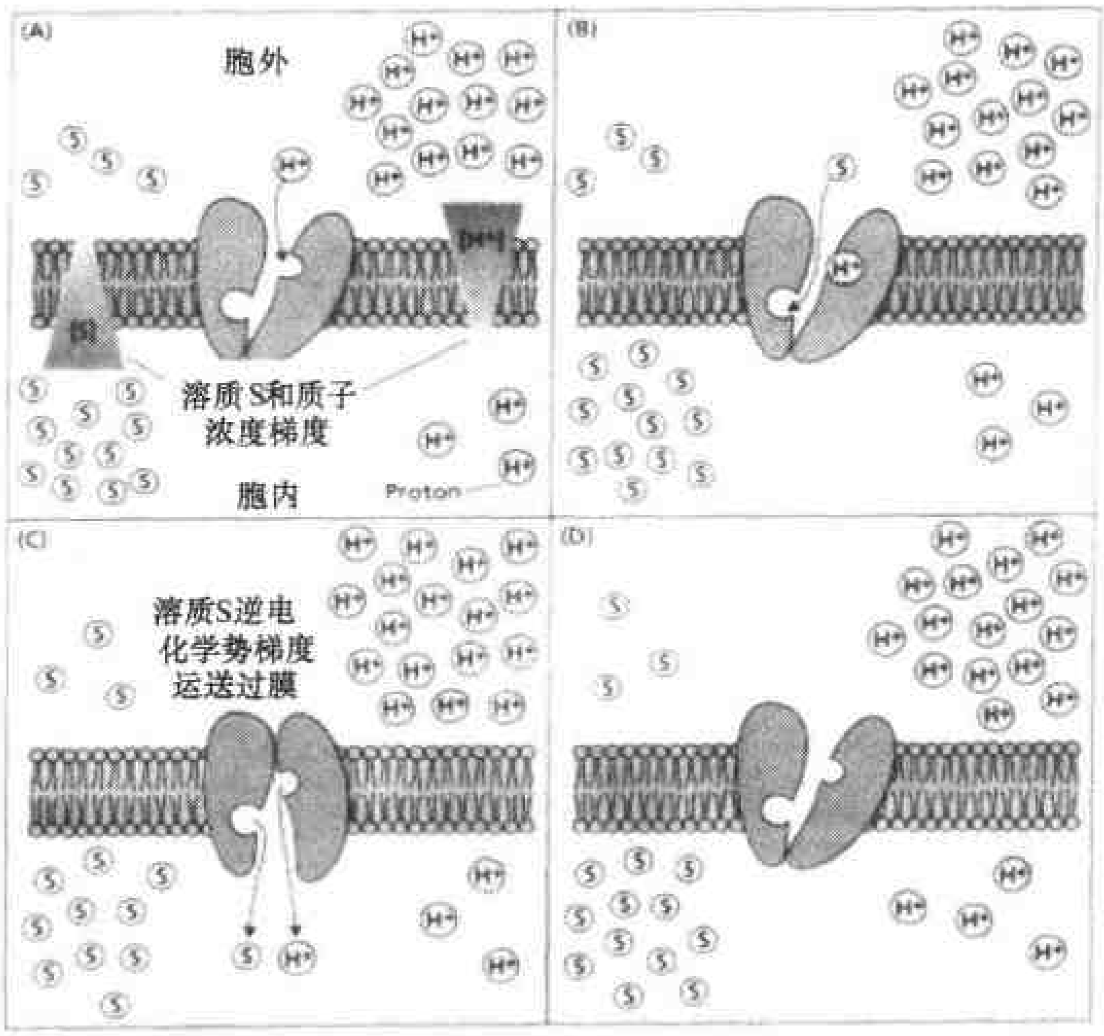



图 4-16　通过载体的次级共运输过程示意图(Taiz & Zeiger　1998)
在质子电化学势梯度的驱动下，溶质 S 被逆着其电化学势梯度运送过膜。

## 三、共　运　输

共运输(co-transport)也被称作协同运输，是指两种溶质被同时运输过膜的机制，两者缺一则此过程不会发生。如图 4-17 所示，根据两种溶质被运输过膜的方向，共运输被分为同向共运输(symport)和反向共运输(antiport)。执行同向共运输的膜蛋白被称作同向共运输载体(symporter)，而执行反向共运输的膜蛋白被称作反向共运输载体(antiporter)。在同向共运输过程中，两种溶质跨膜运输的方向相同；而在反向共运输过程中，两种溶质跨膜运输的方向相反。

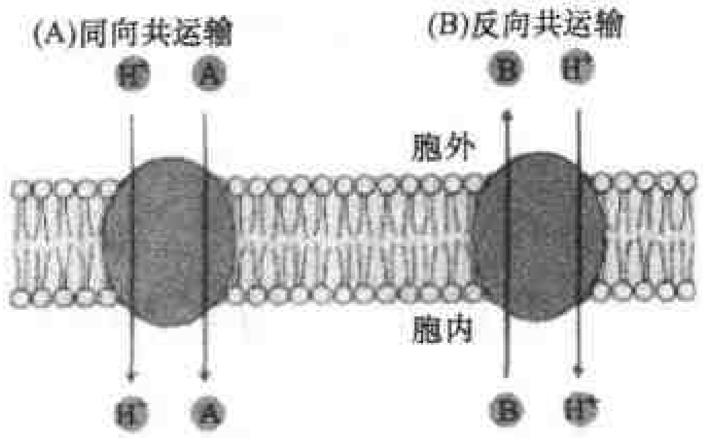



图 4-17　通过载体的次级主动同向和反向共运输示意图(Taiz & Zeiger　1998)

图 4-18 为植物细胞离子跨膜运输机制的综合示意图，图中所标示的各种跨膜运输蛋白及其所执行的离子跨膜运输过程均为目前已有明确实验证据的。

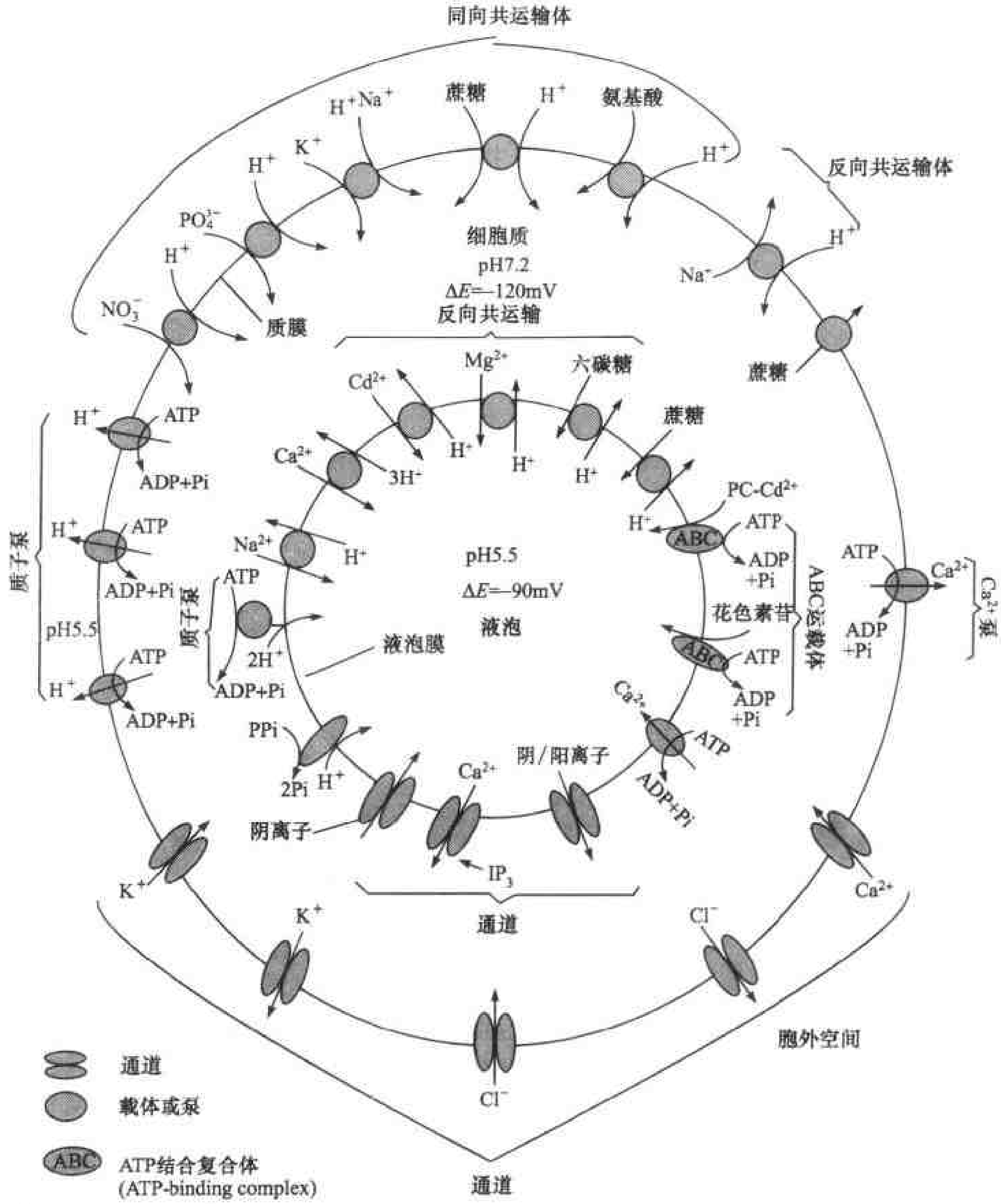



图 4-18 植物细胞质膜和液泡膜离子跨膜运输机制综合示意图（Taiz & Zeiger 1998）
质膜和液泡膜上存在的水孔蛋白等未作标注。植物细胞中最常见的共运输是与质子跨膜运输相偶联的溶质运输，如 $H^+/K^-$、$H^+/NO_3^-$、$H^+/H_2PO_4^{2-}$、$H^+$/蔗糖、$H^+$/氨基酸等。

## 第四节 高等植物 $K^+$、$Ca^{2+}$的跨膜运输机制研究进展

由图 4-18 所示可知，植物细胞跨膜离子运输的机制非常繁杂，本书不可能将各种无机和有机离子的跨膜运输机制逐一详述。因此，本节就目前研究较多的钾离子的跨膜运输机制做一扼要介绍，另外简单地讨论植物细胞信号转导中的重要第二信使钙离子的跨膜运输机制。

# 一、高等植物细胞 $K^+$ 的跨膜运转机制

自 Hoagland 于 1948 年发现活细胞内 $K^+$ 浓度远高于胞外以来，人们对植物细胞的 $K^+$ 吸收机制进行了大量研究。20 世纪 60 年代，Epstein 等在外界 $K^+$ 浓度为 0.002～50 mmol/L 的范围内测定了大麦的 $K^+$ 吸收速率，发现大麦 $K^+$ 吸收速率与溶液中 $K^+$ 浓度的关系可用两个分别都符合米氏方程的动力学过程描述（图 4-19）。其中一个动力学过程的 $K_m$ 值约为 0.021 mmol/L，当溶液 $K^+$ 浓度高于 0.2 mmol/L 时趋于饱和；另一个 $K_m$ 值约为 16 mmol/L。在其他植物中也发现类似现象。Epstein 等推测这是由于质膜上存在两类不同的 $K^+$ 吸收系统，即高亲和性 $K^+$ 吸收系统和低亲和性 $K^+$ 吸收系统，前者主要在环境中钾浓度低于 0.2 mmol/L～0.5 mmol/L 时执行钾吸收功能，而后者则主要在环境中钾浓度高于约 0.5 mmol/L 时发挥作用。

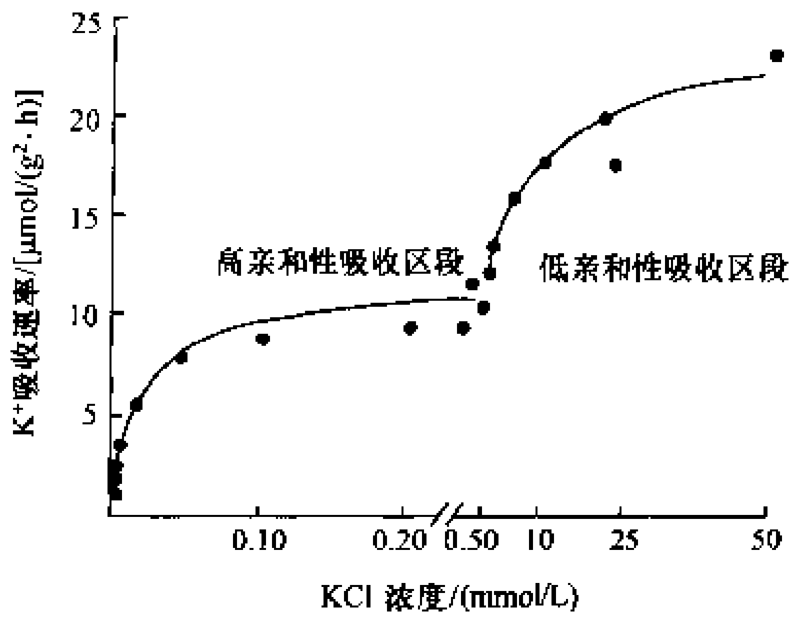



图 4-19　大麦根 $K^+$ 吸收的动力学
（Taiz & Zeiger　1998）

根据对植物 $K^+$ 吸收的热力学特性研究表明，溶液 $K^+$ 浓度较高时，植物 $K^+$ 吸收速率与根据描述离子顺电势梯度扩散的 Goldman 方程计算所得结果非常吻合；但当 $K^+$ 浓度较低时，$K^+$ 吸收速率则远远偏离由该方程计算的结果。而电生理学的研究表明，当外界 $K^+$ 浓度高于 1 mmol/L 时，拟南芥根表皮细胞的跨膜电位足以推动 $K^+$ 内流；而当外界 $K^+$ 浓度低于 1 mmol/L 时，仅靠跨膜电位已不足以推动钾内流，因而在此浓度范围内，拟南芥的 $K^+$ 吸收还需要膜电位以外的能量。

由于植物 $K^+$ 吸收动力学曲线的两个 $K^+$ 浓度范围与具有两个不同热力学特性的 $K^+$ 吸收的钾浓度范围基本一致，因而一般认为植物细胞的低亲和性 $K^+$ 吸收是 $K^+$ 顺自身电化学势梯度进行运输，而高亲和性 $K^+$ 吸收则是 $K^+$ 逆自身电化学势梯度进行运输。

**1. 植物的高亲和性 $K^+$ 吸收机制**

由于高亲和性 $K^+$ 吸收是 $K^+$ 逆电化学势梯度运输，需要额外的能量来源，因而人们提出了几种假说并对其进行了检验。

(1) $H^+$-$K^+$ 交换 ATPase　　有人提出了植物高亲和性 $K^+$ 吸收是通过 $H^+$-ATPase 与 $K^+$ 反向交换进行的。大量实验证实，$K^+$ 的吸收通常伴随有 $H^+$ 的外流。另外，对 $H^+$-ATPase 的研究发现，$K^+$ 可以刺激 $H^+$-ATPase 的活性，且其动力学数据与 $K^+$ 吸收十分相似。以上实验证据都支持 $H^+$-$K^+$ 交换 ATPase 的假说。然而人们又发现，激活 $H^+$-ATPase 所需的 $K^+$ 浓度高达几十毫摩尔，而且是在质膜内侧发生作用的；而且 $K^+$ 内流虽然伴随着 $H^+$ 外流，但二者既没有时间上的对应关系，也没有一定的化学计量比。因此，有人对 $H^+$-ATPase 介导的电流的逆转电位进行测定，发现 $K^+$ 浓度对该电位没有显著影响，从而也否定了 $H^+$-ATPase 直接与 $K^+$ 运输相偶联的观点。

(2) $K^+$-ATPase　　与 $K^+$ 吸收直接偶联的 ATPase 最早在动物细胞中得到确认，继而在细菌和真菌中也克隆到与动物 $K^+$-ATPase 相类似的两个 $K^+$ 吸收蛋白基因。由此，人们设想植物中也可能存在专门负责 $K^+$ 运输的 ATPase。玉米根系的高亲和性 $K^+$ 吸收对胞外 pH 变化不敏感，这既和 $H^+$-$K^+$ 交换 ATPase 矛盾，也不支持 $H^+$-$K^+$ 同向共运转体的假说，由此也推测植物细胞可能存在 $K^+$-ATPase。但迄今为止，在植物细胞中尚未获得支持这一观点的确切实验证据，而且对拟南芥全基因组的分析也尚未发现与动物和微生物 $K^+$-ATPase 基因同源的基因。因此，有关植物细胞是否确实

存在 $K^+$-ATPase 还有待证明。

(3) $H^+$-$K^+$ 同向共运转体　早在化学渗透学说提出后就有人推测可能植物细胞质膜上也存在由跨膜 $H^+$ 电化学势梯度推动的 $K^+$ 吸收机制，而后来的研究工作也间接证明植物细胞质膜存在 $H^+$-$K^+$ 同向共运转体。利用膜片钳技术对拟南芥根细胞进行的全细胞钾电流记录结果表明，$Na^+$ 和 $Ca^{2+}$ 跨膜浓度梯度变化对在低浓度 $K^+$ 条件下的内向钾电流的逆转电位无明显影响，而 pH 跨膜梯度的变化引起的逆转电位的改变则与理论上推测 $K^+$ 内流与 $H^+$ 内流偶联时的预期值接近，而且计算结果也表明 $H^+$ 与 $K^+$ 跨膜流动的数量比为 1∶1。但到目前为止，尚无分子生物学的实验证据支持这一假设。

(4) $Na^+$-$K^+$ 同向共运转体　从经过钾饥饿的小麦(品种 Atlas 66)中得到一编码负责 $K^+$ 运输的膜蛋白基因 *HKT1*，该基因在丧失 $K^+$ 吸收功能的酵母突变体中表达后恢复了突变体在低钾下正常生长的功能；当介质 $Na^+$ 浓度在微摩尔水平时，HKT1 引起的 $K^+$ 内流与 $Na^+$ 内流相互促进，因此 HKT1 被认为是一 $Na^+$-$K^+$ 同向共运转体。但对 HKT1 的实际功能还有争议，有人用克隆到 *HKT1* 的小麦品种 Atlas 66 进行实验，并没有发现 $K^+$ 吸收有与 $Na^+$ 偶联的迹象。

(5) 其他高亲和性 $K^+$ 吸收载体　从大麦根中克隆到的 *HvHAK1* 基因与大肠杆菌 $K^+$ 运转体 *KUP* 及酵母 $K^+$ 运转体 *HAK1* 基因均有较高的同源性，在拟南芥中也得到其同源基因 *AtKUP* 系列，并确认它们都属于同一多基因家族，其中 AtKUP1 可介导植物细胞高亲和性 $K^+$ 吸收。在拟南芥中克隆到的 *KEA1* 与细菌中的 $K^+$-$H^+$ 和 $H^+$-$Na^+$ 运转体基因可能同源，KEA1 在爪蟾卵母细胞中可介导依赖于 $K^+$ 的内向电流。

**2. 植物的低亲和性 $K^+$ 吸收机制**

植物的低亲和性 $K^+$ 吸收由植物细胞钾离子通道介导。早在 20 世纪 70 年代人们就已经观测到植物细胞的钾吸收显著依赖于细胞跨膜电位，而且钾吸收也被 $K^+$ 通道抑制剂 TEA 所抑制，因此就开始推测植物细胞的钾吸收是可能通过 $K^+$ 通道进行的。在 1984 年膜片钳技术被用于植物细胞离子通道的研究之后，人们对植物细胞 $K^+$ 通道开始有了更多的认识。

1992 年，拟南芥 $K^+$ 通道基因 *AKT1* 和 *KAT1* 被克隆，将这两种基因转入缺失 $K^+$ 吸收系统的酵母突变体中，使后者恢复了能在含低 $K^+$ 浓度的培养基上正常生长的能力，这一结果支持了植物细胞 $K^+$ 通道具有 $K^+$ 吸收功能的假设。此后，在 20 世纪 90 年代，人们陆续用膜片钳技术在多种不同植物的不同类型细胞上观测记录到了内向和外向钾通道介导的 $K^+$ 电流，并详细研究了这些通道的调控特性。

植物细胞 $K^+$ 通道具有离子通道的一般特性。首先，其对透过离子的种类有选择性。植物细胞 $K^+$ 通道的选择性不是绝对的，一般对于 $NH_4^+$、$Rb^+$、$Li^+$、$Na^+$ 也有一定通透性，只是在正常条件下，对 $K^+$ 的通透性比对其他离子的通透性高。不同 $K^+$ 通道的选择性也有一定差异，$K^+$ 通道对 $Na^+$ 通透性的不同可能影响到植物的耐盐程度。其次，植物细胞钾通道有不连续的"开"或"关"的状态，表现为在一定电压下处于开放或关闭的状态(而不存在中间状态)。

继 *AKT1* 和 *KAT1* 后，人们陆续克隆出其同源 cDNA，它们表达的大多是内向整流 $K^+$ 通道，如 *AKT2*、*AKT3*、*KST1* 等。不同内向整流 $K^+$ 通道在植物中的表达具有高度组织特异性。*KAT1* 主要在保卫细胞中表达，*AKT1* 主要在根组织中表达，*KST1* 在保卫细胞和花中表达，*AKT2* 主要在叶组织中表达。植物细胞的质膜、液泡膜、叶绿体膜上都有 $K^+$ 通道的分布；在相同的细胞膜上，$K^+$ 通道也有不同的种类，如液泡膜上就已鉴定出 FV(fast vacuolar)、SV(slow vacuolar)、VK(vacuolar $K^+$)三种 $K^+$ 通道。

根据植物细胞各种内向 $K^+$ 通道 cDNA 所编码的氨基酸序列与动物 $K^+$ 通道结构的比较结果说明，KAT1 和 *AKT1* 所表达的蛋白质分子质量为 65～100 kDa，属于动物质膜上外向整流 $K^+$ 通道

"Shaker"超家族的成员。KAT1 和 AKT1 的疏水性图谱分析表明，这两种蛋白质有 6 个疏水性跨膜区域(S 1 ～ S 6)，其 N 端和 C 端位于胞质一侧(图 4-8)。在 S 4疏水性跨膜区域中，每隔 3～4 个氨基酸残基就有一个带正电的残基，它们形成通道的电压感受器(voltage sensor)，负责通道的电压门控。在 S 5和 S 6区之间，有一段高度保守的区域，称为孔道(pore)环状结构域或简称为 P 结构域(P-loop domain)，它的一部分位于膜外，另一部分位于疏水性区域内。P 结构域形成 $K^+$通道的"入口"，含 $K^+$的结合位点，其特定的氨基酸序列对于离子选择性是十分重要的。*AKT1* 和另一种从拟南芥中克隆出的 $K^+$通道 cDNA *AKT2* 所表达的蛋白在近 C 端还含有环化核苷酸结合序列(cyclic nucleotide-binding site，CNBS)，含 CNBS 的蛋白一般均与环化核苷酸的调控有关。*AKT* 基因中*CNBS* 序列的下游还有锚蛋白重复基序(ankyrin repeat motif，AR)。上述结构是内向整流 $K^+$ 通道的 α 亚基的结构，4 个 α 亚基形成一个内向整流 $K^+$通道的高级结构，其中 4 个 α 亚基的 P 结构域形成通道的选择性"入口"(selective pore)。

根据对拟南芥基因组序列的分析，归纳出表 4-3 所列的拟南芥中存在的钾离子通道和钾运输载体。这些拟南芥中的钾转运蛋白包括两类钾通道和三类钾转运体共五个家族：KCO 外向钾通道家族、Shaker 钾通道家族、Trk/HKT 钾转运体家族、KUP/HAK/KT 钾转运体家族、$K^+/H^+$ 反向转运体家族。由表 4-3 可见，植物的 $K^+$吸收机制是多样化的，这些多种不同的 $K^+$ 吸收机制的存在可能有利于植物对各种环境的适应。

**表 4-3　拟南芥中的钾离子通道和钾运输载体**

| 分类 | | | 转运方向 | 结构 | 结构特点 | | 成员数目 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 钾通道 | KCO 外向钾通道家族 | | 外向 | 2P/4TM | 其中 4 个有 EF 手型结构 | | 6 个 |
| | Shaker 钾通道 | SKOR/GORK | 外向 | 1P/6TM | 有 CNBS | 有 AR | 2 个 |
| | | KAT | 内向 | | 有 CNBS | 无 AR | 3 个 |
| | | AKT | 内向 | | 有 CNBS | 有 AR | 4 个 |
| 钾转运体 | AtHKT(Trk/HKT 钾转运体) | | P-Loop=4，TM=8；$Na^+/K^+$ 同向转运体 | | | | 1 个 |
| | KUP/HAK/KT 钾转运体 | | TM=12；$K^+/H^+$ 反向转运体 | | | | 13 个 |
| | KEA 类 $K^+/H^+$ 反向转运体 | | TM=10(与革兰氏阴性菌的 KEA 结构类似) | | | | 6 个 |

注：P/TM，P-Loop / transmembrane domain(孔道环状结构区域 / 跨膜区域)；CNB，cyclic nuleotide-bing site(环核苷酸结合位点)；AR，ankyrın repeat motif(锚蛋白重复基序)。

## 二、高等植物 $Ca^{2+}$ 的跨膜运转机制

有关 $Ca^{2+}$ 作为植物细胞胞内第二信使的重要生理作用参见本书第十八章内容，这里仅讨论植物细胞 $Ca^{2+}$ 的跨膜运转机制。

胞内游离钙离子浓度的变化主要是通过钙的跨膜运转或钙螯合物的调节而实现的。已经在质膜、液泡膜、内质网膜上发现钙离子泵和钙离子通道的存在，说明细胞质与胞外环境及胞内亚细胞结构内部之间存在钙离子的运输或交换。图 4-20 表示在细胞质、胞外、液泡等内膜系统空间之间存在钙离子梯度、以及不同空间之间通过质膜或液泡膜上的钙离子运转蛋白可能发生的钙离子跨膜运输情况。如图 4-20 所示，大多数植物活细胞细胞质内的自由钙离子浓度是非常低的，大约在 20～200 nmol/L 之间，所谓一般经常提到的细胞质内钙离子浓度的变化也就是在此浓度范围内的波

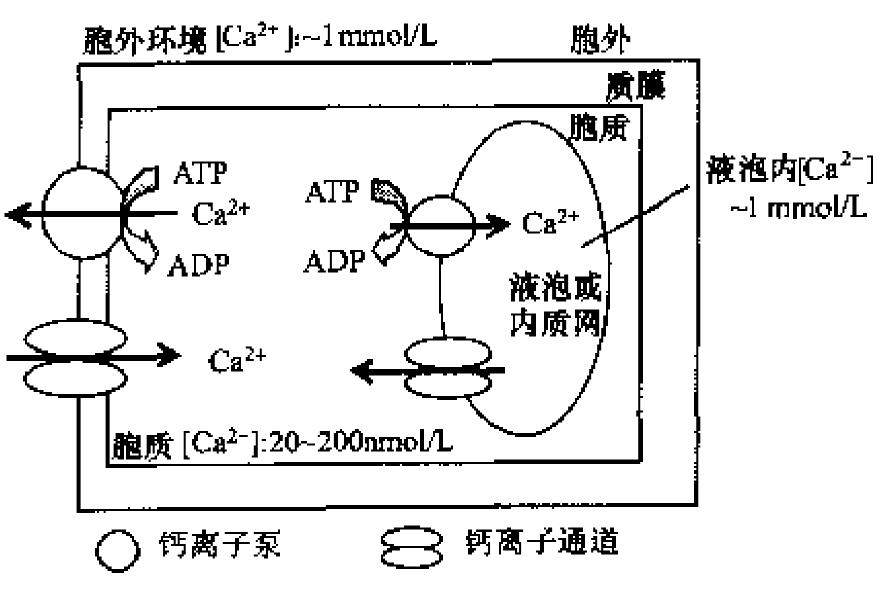



图 4-20　植物细胞钙离子跨膜运输系统示意图

动。活细胞细胞质内自由钙离子浓度是受各种复杂机制严格调控的，如果细胞质内自由钙离子浓度过高（如超过 1μmol/L），则细胞可能处于不正常状态或濒临死亡。而活细胞所处的环境和胞内内膜系统（如液泡）空间中的钙离子浓度通常高达约 1 mmol/L 的水平，因此在细胞质与胞外环境之间及与内膜系统空间之间的钙离子通常存在高达 4～5 数量级的浓度差，而由此也产生了跨质膜和跨液泡膜的巨大钙离子浓度梯度。可以想像，一旦质膜或液泡膜上的钙离子通道处于开放状态，将会有大量的钙离子在巨大的跨膜钙离子浓度梯度的驱动下迅速“涌入”细胞质。可见，植物细胞的外部质外体空间和胞内内膜系统空间犹如两个巨大的“钙库”，一般将活细胞外的空间称为“胞外钙库”、内膜系统空间称为“胞内钙库”。

细胞质内的自由钙浓度主要依靠质膜和液泡膜上的钙离子通道和钙离子泵的协同作用来调控。两类膜上的钙离子通道的作用主要是，当通道被激活开放时允许钙离子进入细胞质，结果导致胞质钙离子浓度升高。但如前所述，由于跨膜存在的巨大钙离子浓度梯度，钙离子通过通道进入细胞质的速度是非常快的，因此钙离子通道的激活是受严格调控的。现在看来，植物细胞膜存在有受张力、电压、配体、光照等各种不同刺激或信号调控的钙离子通道，不同类型的通道可能分别相应地参与不同的信号转导及生理调控过程。

正常的活细胞内其钙离子浓度必须维持相对的稳定状态，即所谓的“钙稳态”。也就是说，当活细胞受到某种刺激作用其胞质钙离子浓度升高后，就必须有使胞质钙离子水平恢复到原来较低水平的机制随之启动，而质膜和液泡膜上的钙离子泵和 $Ca^{2+}/H^+$ 反向运转体的作用就在于不断将钙离子从胞质内泵至胞外或液泡内。因此，存在于质膜和液泡膜上的各类钙离子通道和钙离子泵及 $Ca^{2+}/H^+$ 反向运转体构成了活细胞钙离子跨膜运输的复合系统，该系统中的任一成员的活动都受系统内其他成员以及活细胞其他系统或过程的调控。

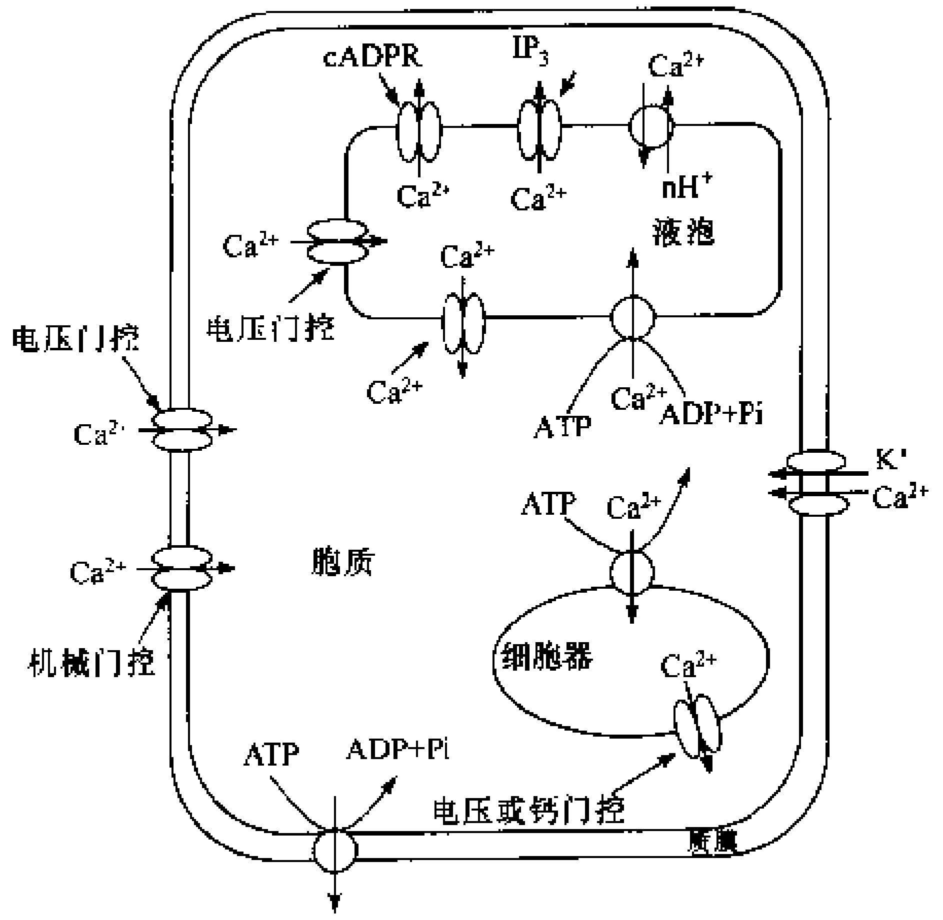



图 4-21　高等植物细胞各种 $Ca^{2+}$ 跨膜运输途径示意图

质膜 $Ca^{2+}$ 通道包括电压依赖性 $Ca^{2+}$ 通道、$Ca^{2+}$ 通透性通道和质膜拉伸激活（机械门控）的 $Ca^{2+}$ 通道。液泡膜上的 $Ca^{2+}$ 释放通道包括肌醇三磷酸（$IP_3$）激活的 $Ca^{2+}$ 释放通道、cADPR 激活的 $Ca^{2+}$ 释放通道和 $Ca^{2+}$ 激活的 $Ca^{2+}$ 释放通道。质膜上存在 $Ca^{2+}$ 泵；液泡膜上存在 $Ca^{2+}$ 泵和 $Ca^{2+}/H^+$ 反向运转体。

**1. 植物细胞钙离子通道**

如上所述，在细胞钙稳态机制中，$Ca^{2+}$ 通道是一类非常重要的调节分子，在许多信号转导过程的起始中起关键作用。当细胞需要时，质膜和（或）作为胞内钙库的细胞内膜上的 $Ca^{2+}$ 通道负责将胞外或（和）胞内钙库中的 $Ca^{2+}$ 运入细胞质。迄今已在植物细胞膜上发现多种类型的 $Ca^{2+}$ 通道，依其存在的部位可划分为两大类，一类是质膜上的 $Ca^{2+}$ 通道，将胞外的 $Ca^{2+}$ 运进细胞质；另一类是位于内膜系统上的 $Ca^{2+}$ 通道，负责将胞内钙库中储存的 $Ca^{2+}$ 释放进入细胞质，亦称 $Ca^{2+}$ 释放通道（图 4-21）。但几乎所有关于植物细胞钙离子通道的研究仍局限于电生理以及其他一些间接方法的研究，而在生化与分子生物学方面的研究一直无实质性突破。

用膜片钳技术首次记录到的高等植物细胞质膜钙通道是对机械刺激敏感的（或称拉伸激活的）$Ca^{2+}$ 通透性通道，而近年来用同位素示踪和电生理方法证明了高等植物细胞质膜上亦存在电压门控的 $Ca^{2+}$ 通道。迄今已报道的电压依赖性的植物细胞质膜 $Ca^{2+}$ 通道多数是受去极化

膜电位所激活的。而在液泡膜上研究较多的则是两类配体门控的 $Ca^{2+}$ 通道，即类似于动物细胞的由 $IP_3$门控的 $Ca^{2+}$通道和受 cADPR(cyclic ADP-ribose)门控的 $Ca^{2+}$ 通道。此外也还发现在液泡膜、内质网膜、类囊体膜上存在电压依赖性的 $Ca^{2+}$ 通道。

表 4-4 总结了已经报道的不同植物种类、不同细胞膜系统上的 $Ca^{2+}$ 通道的一些基本特征，图 4-21 大体上表示了植物细胞质膜和内膜系统上的各类钙离子通道。总体上讲，迄今已积累的有关高等植物细胞 $Ca^{2+}$ 通道的文献资料尚很缺乏，多数局限于利用电生理以及同位素示踪等间接方法所取得的实验证据。根据多数研究结果分析，植物细胞钙离子通道大多具有选择性不高的特点，即所谓的钙通透性通道同时也对其他离子有一定的通透性，甚至有些钙通透性通道对其他离子(如钾、镁等)的通透性高于对钙离子的通透性。在拟南芥全基因组测序工作完成以后，人们利用动物细胞钙离子通道基因保守序列对拟南芥基因组数据库的查询结果显示，植物细胞只有少数几种与动物细胞同源的钙离子通道基因。当然，这并不能排除植物细胞具有一些特有的特殊类型的钙通道基因。鉴于钙离子通道在植物细胞信号转导及植物生长发育调控中的重要作用，今后有关植物细胞钙离子通道的生物化学和分子生物学研究将无疑具有重要的科学理论意义。

**表 4-4 已经报道的部分高等植物细胞 $Ca^{2+}$ 通道及其特性**

| 膜来源 | 植物种类 | 通道门控类型 | 电导/pS | $P_{Ca^{2+}}/P_{K^+}$ | $Ca^{2+}$浓度/(mmol/L) |
|---|---|---|---|---|---|
| **质膜** | | | | | |
| 重组蛋白 | 野胡萝卜(*Daucus carota*) | 电压 | 13 | 未确定 | 40 |
| 根 | 黑麦(*Secale cereale*) | 电压 | 135 | 2 | 100 |
| 根 | 黑麦(*Secale cereale*) | 电压 | 40 | 3 | 100 |
| 根 | 普通小麦(*Triticum aestivum*) | 电压 | 27 | 17～26 | 0.1～1 |
| 成熟叶肉 | 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) | 电压 | 23 | >30 | 50[a] |
| 表皮细胞 | 洋葱(*Allium cepa*) | 拉伸 | 100 | 17 | 100 |
| 保卫细胞 | 蚕豆(*Vicia faba*) | 拉伸 | 3 | 200 | 30 |
| | | | 10 | 1 | 30 |
| **液泡膜** | | | | | |
| 悬浮培养细胞 | 烟草(*Nicotiana tabacum*) | 电压 | 30 | >30 | 50[a] |
| 悬浮培养细胞 | 甜菜(*Beta vulgaris*) | 电压 | 14 | 20 | 10[a] |
| 根 | 甜菜(*Beta vulgaris*) | 电压 | 12 | 15～20 | 5 |
| 根 | 甜菜(*Beta vulgaris*) | 配体($IP_3$) | | 100～800 | 5 |
| 根 | 甜菜(*Beta vulgaris*) | 配体(cADPR) | 未确定 | 9～27 | 5 |
| 保卫细胞 | 蚕豆(*Vicia faba*) | 电压 | 14 / 27 | 4 和 9 | 5 |
| **类囊体膜** | 菠菜(*Spinacia oleracea*) | 电压 | 21 | 1.93 | 5 |

a 用 $Ba^{2+}$ 代替 $Ca^{2+}$。

## 2. 植物细胞钙离子泵

当胞质钙过高时，质膜和内膜系统上的 $Ca^{2+}$ 泵或 $Ca^{2+}/H^+$ 反向运转体负责将多余的 $Ca^{2+}$ 运出细胞质，这些钙泵和运载体运送钙离子的方向总是自细胞质向“外”运输(包括向胞外和向内膜系统空间)(图 4-21)。

已经知道在植物细胞质膜、液泡膜、内质网膜及叶绿体内被膜上均存在 $Ca^{2+}$-ATPase($Ca^{2+}$ 泵)，所有这些 $Ca^{2+}$-ATPase 均为 P 型 ATPase，但它们的蛋白结构又彼此不同。

有关动物细胞中 $Ca^{2+}$-ATPase 的研究已经较为透彻，动物细胞 $Ca^{2+}$-ATPase 分为两大类。一类是质膜上的 $Ca^{2+}$-ATPase，在其 C 端有一与钙调素特异结合的区域，当钙调素与其结合时$Ca^{2+}$-ATPase被激活。此类 $Ca^{2+}$-ATPase 的分子质量为 130 kDa。另一类是内质网膜上的 $Ca^{2+}$-ATPase，其蛋白结构无钙调素结合区域，分子质量与典型的 P 型 ATPase 相似，为 110 kDa。

植物细胞质膜上的 $Ca^{2+}$-ATPase 与动物细胞质膜 $Ca^{2+}$-ATPase 的调控类似，其活性也是由钙调素的结合所调控。虽然在植物细胞中已经鉴定出类似于动物细胞质膜 $Ca^{2+}$-ATPase 的几种同源基因，但有关 $Ca^{2+}$-ATPase 在植物细胞质膜上的定位工作尚无结果。植物细胞内质网膜上的 $Ca^{2+}$-ATPase则已经有明确的蛋白定位研究结果。另外在叶绿体内被膜和液泡膜上也已鉴定出 $Ca^{2+}$-ATPase。其中，液泡膜上的 $Ca^{2+}$-ATPase 也是由钙调素所激活的，但与动物细胞所不同的是，植物细胞液泡膜上 $Ca^{2+}$-ATPase 的钙调素结合位点不是在该蛋白的 C 端，而是在其 N 端。

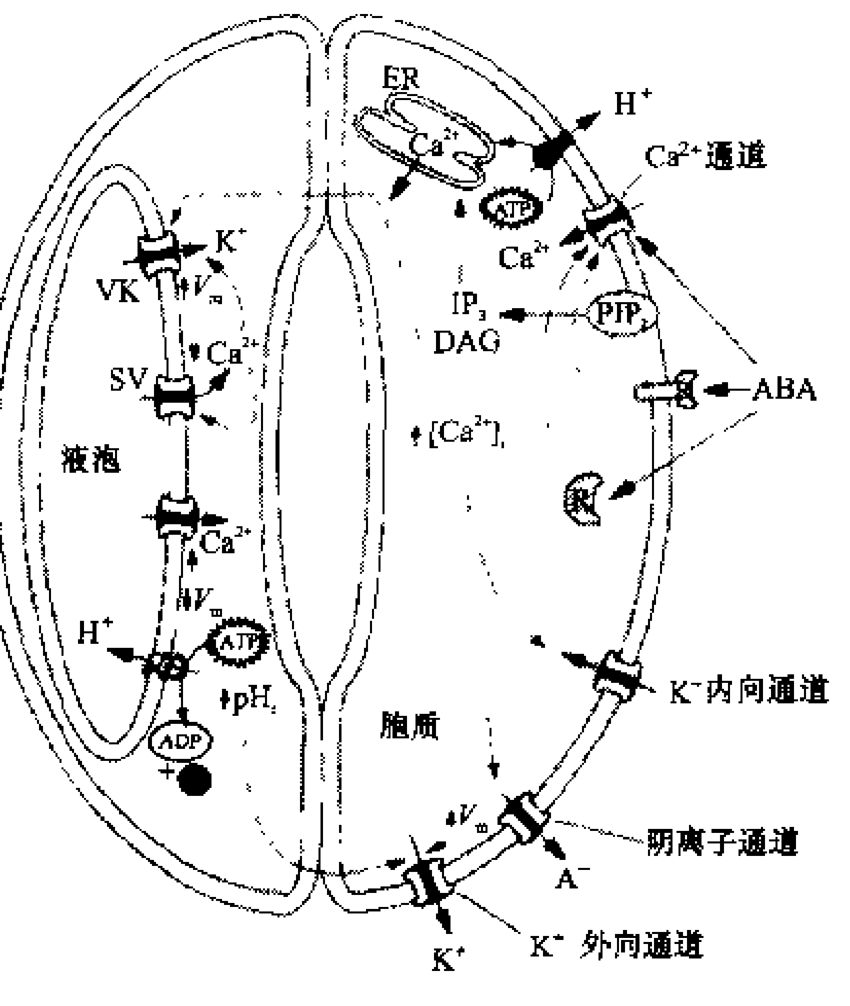



图 4-22 气孔关闭过程中胞质 $Ca^{2+}$ 调控质膜和液泡膜上各种离子通道和质子泵的机制(Buchanan et al. 2000)

ABA 受体(R)被激活、$Ca^{2+}$通道被激活导致了胞质自由 $Ca^{2+}$的增加，$Ca^{2+}$激活质膜上的外向阴离子通道和外向 $K^-$ 通道，同时抑制了内向 $K^+$通道；结果导致保卫细胞内溶质浓度下降、失水收缩，最终使气孔关闭。

前面曾经提到，在细胞质与胞外环境之间及与内膜系统空间之间存在巨大的钙离子浓度梯度，因此当质膜或细胞液泡膜上的 $Ca^{2+}$-ATPase 逆着钙离子浓度梯度跨膜运送钙离子时需消耗大量能量。但除了跨膜存在的钙离子浓度梯度对 $Ca^{2+}$-ATPase跨膜运送钙离子形成的巨大阻力外，还由于细胞质空间相对于胞外或内膜空间的跨膜电位是负值，将任何阳离子运出细胞质都会受到来自膜电位的阻力，因此作为二价阳离子的钙离子被 $Ca^{2+}$-ATPase 运出细胞质时就更加困难。但是，经 $Ca^{2+}/H^+$ 反向运转体将钙离子运出细胞质时所受到的阻力则会小的多，因为 $Ca^{2+}/H^+$ 反向运转体的工作方式是在将 $Ca^{2+}$ 运出细胞质的同时，还有可能电荷数较多的质子被反向运输，因此这一过程几乎不受到来自跨膜电位的阻力。所以有人认为，植物细胞膜上的 $Ca^{2+}/H^+$ 反向运转体至少和 $Ca^{2+}$-ATPase 的作用同样重要，两者的协同作用可能是植物细胞维持钙稳态的重要机制。

植物细胞膜上的各种离子通道、载体、泵不仅直接参与植物细胞对各种矿质营养元素及各种小分子有机物质的吸收和运转，而且这些离子运载体的活动也直接参与许多重要的细胞信号转导过程。图 4-22 以气孔保卫细胞为例，简要地表示了膜上的各种离子通道和泵参与细胞信号转导过程的机制(有关气孔开闭运动调节的机理请参考第三章和第十八章的内容)。

## 小　结

细胞的各种生命活动在被生物膜包裹的环境中进行，各种无机和有机离子的跨膜运输是生命活动不可或缺的过程。生物膜脂质双层结构中疏水空间使各种离子不能自由进行跨膜运输，离子跨膜运输的过程由镶嵌在膜中的各种离子跨膜运输蛋白来执行。根据跨膜离子运输蛋白的结构及运送离子发生跨膜运输的方式，将跨膜离子运输蛋白分为离子通道、离子载体和离子泵。这些离子跨膜运输蛋白均为膜内在蛋白，分别具有若干疏水的跨膜区段。离子通道是由通道蛋白多肽链中的若干疏水性区段在膜的脂质双层结构中形成的跨膜孔道结构，而离子载体的跨膜区域并不形成明显的孔道结构。离子泵是一些具有 ATP 水解酶功能、并能利用水解 ATP 的能量将离子逆着其电化学势梯度进行跨膜运输的膜载体蛋白。

离子进行跨膜运输的驱动力来自跨膜电化学势梯度或 ATP 被水解所释放的能量。跨膜电化学势梯度包括跨膜化学势梯度和跨膜电位梯度。跨膜电位形成的本质是电荷在膜两侧的分布不均匀，而且膜对这些不均匀分布的电荷载体(离子)有一定的通透性。处于膜两侧的不均匀分布的任何一种离子都有自电化学势较高的一侧向电化学势较低的另一侧进行扩散运动的趋势。离子在电化学势的驱动下通过离子通道进行跨膜运输的方式被称为离子的被动运输，这一过程并不直接消耗水解 ATP 的能量。有些离子的被动跨膜运输是通过载体进行的，此类运输机制被称作协助扩散。所有被动运输过程的最大特点是离子的运输方向顺着电化学势梯度的方向。在离子的主动运输过程中，离子的跨膜运输与消耗水解 ATP 的能量相偶联，而且被运送离子运动的方向是逆着该种离子的跨膜电化学势梯度进行的。离子通过离子泵的跨膜运输就是主动运输过程。植物细胞膜上由 $H^+$-ATP 酶所执行的主动运输过程又被称作初始主动运输，而由 $H^+$-ATP 酶活动所建立的跨膜质子电化学势梯度所驱动的其他无机离子或小分子有机物质的跨膜运输过程被称为次级主动运输。

**思考题**

(1) 在正常情况下，植物细胞膜外侧环境中的钾离子浓度约为 1～10mmol/L，而膜内侧(细胞质内)的钾离子浓度在 100mmol/L 左右；即：细胞质内带正电荷的钾离子浓度远高于膜外侧；但据膜两侧之间钾离子浓度差由能斯特方程计算出的跨膜电位却为内负外正，请解释为什么？

(2) 较为低等的海生植物能在钠盐较高的环境中生长，高等陆生植物则一般对钠盐较为敏感；而高等陆生植物一般被认为是自低等的海生植物进化而来。请用进化及分子生物学的观点解释为什么高等陆生植物对钠盐敏感的可能原因。

(3) 何谓“膜电位”？解释膜的“超极化”和“去极化”现象。

(4) 讨论离子跨膜的被动、主动、协同运输机制，并简述这些不同机制间的相互关系。

(5) 解释“初级主动运输”和“次级主动运输”，两者的差异为何？

(6) 讨论植物细胞膜对不同离子的选择性与植物对环境的适应性之间的可能关系。

# 第五章　植物的矿质营养和植物对氮、硫、磷的同化

高等植物生长发育的营养来源除了在种子萌发和幼苗生长阶段可部分依赖母体种子贮藏的物质外，其生长发育过程所需营养中的绝大部分来自其自身地上部分的光合作用和根系自土壤溶液中吸收的矿质营养元素。绿色高等植物自环境中不断吸收、同化、利用各种矿质营养元素是植物生长发育所必需的基本过程，也是其作为自养生物的特征之一。植物自土壤中吸收水分的同时，也从土壤中吸收各种矿质元素和氮素，以维持正常的生命活动。植物吸收的这些元素，有的作为植物体的组成成分，有的参与调节生命活动，有的兼有这两种功能。

人们对植物矿质营养的认识，经过了漫长的实践探索。在我国古代的农学巨著《齐民要术》中曾有"五木者，五谷之先也；欲知五谷，但视五木。择其木盛者，来年多种之，万不失一也。"这种根据树木的长势来判断土壤肥沃程度以决定是否适宜种植谷物的观点，已经蕴涵了判断土壤肥力和土壤肥力对植物生长影响的思想。在《管子》一书中更是已经将土壤划分为上、中、下三等，每等土壤又分为6个类别(共18类)，而每类土壤又被分为5种(共90种)，并逐一描述了各种土壤的特性以及在各种土壤中适宜种植的植物种类(周肇基　1998)。古代人们对植物营养的认识大多源于生产实践中的观察和经验，而现代植物营养学的研究直到19世纪中叶才始见端倪。第一位用实验方法探索植物营养来源的科学家是荷兰人凡·海尔蒙(见绪论)。其后，格劳勃(Glauber　1650)发现，向土壤中加入硝酸盐能使植物产量增加，于是他认为水和硝酸盐是植物生长的基础。1699年，英国的伍德沃德(Woodward)用不同来源的水(雨水、河水、山泉水、自来水和花园土的水浸提液等)培养薄荷，发现植株在河水中生长比在雨水中好，而在土壤浸提液中生长最好。据此他认为，构成植物体的不仅是水，还有土壤中含有的一些特殊物质。后来又有人将植物培养在蒸馏水中，植物不久即死亡，植物残骸的灰分含量也没有增加；而将植物的灰分和硝酸盐加入蒸馏水中，植物便可正常生长。这证明了灰分元素对植物生长的必需性。1840年德国的李比希(J. von Liebig，1803～1873)建立了矿质营养学说，并确立了植物生长所需无机营养来自土壤的观点。布森高(J. B. D. Boussingault，1802～1879)进一步在石英砂和木炭中加入无机化学药品培养植物，并对植物周围的气体作定量分析，证明构成植物体的碳、氢、氧是从空气和水中得来，而矿质元素是从土壤中得来。1859年，诺普(W. Knop)等人成功地使培养在按固定配方配制的营养液中的植物完成了生活史，使植物营养研究进入了精确化和定量化阶段，为植物必需的大量元素和微量元素的陆续发现创造了条件，也为农作物施肥奠定了理论基础。

## 第一节　植物体内的必需元素

### 一、植物体内的元素

将植物材料在105℃下烘干称重，可测得蒸发的水分约占植物组织的10%～95%(不同植物种类或不同植物组织和器官的水分含量差异很大)，而干物质占5%～90%。干物质中包括有机物和无机物。将在105℃下烘干的植物材料在600℃下高温烘烤，干物质中绝大部分有机物中的碳、氢、氧、氮等元素以二氧化碳、水、分子态氮、氨、氮和硫的氧化物等气体形式挥发出来，其总重量占干物质中的90%～95%；剩余的不能挥发的灰白色残渣称为植物灰分(ash)，其总重量占干物质中的5%～10%。灰分中的物质为各种矿质的氧化物、硫酸盐、磷酸盐等，构成植物灰分的元素称为植物灰分元素(ash element)，由于它们直接或间接地来自土壤矿质，故又称为矿质元素(mineral element)。由于氮在高

温烘烤过程中变为各种气态物质而挥发，并不存在于灰分中，所以一般认为氮不是矿质元素。但除了能依赖共生固氮菌自大气中直接获取氮素的豆科等植物种类外，其他大部分植物体内的氮素也和其他灰分元素类似，主要是从土壤中所摄取的。

不同种类植物体内的矿质含量不同，同一植物的不同组织或器官的矿质含量也不同。甚至生长在不同环境条件下的同种植物、或不同年龄的同种植物体内矿质含量也会有所不同。一般水生植物矿质含量只有干重的 1%左右，中生植物占干重的 5%～10%，而盐生植物最高，有时达 45%以上。同种植物不同器官的矿质含量差异也很大，一般木质部约为 1%，种子约为 3%，草本植物的茎和根为 4%～5%，叶则为 10%～15%。

植物体内的矿质元素种类很多，现已发现 70 种以上的元素存在于不同植物中。表 5-1 是分析不同植物所得的植物体内比较常见的 35 种元素的平均含量。

**表 5-1 植物体中部分化学元素含量**

| 元素 | 占干重% | 元素 | 占干重% | 元素 | 占干重% | 元素 | 占干重% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 氧 | 60～70 | 硫 | ～0.05 | 铜 | ～0.0002 | 镍 | ～0.00005 |
| 氢 | 8～10 | 铁 | ～0.02 | 钡 | ～0.0001 | 砷 | ～0.00003 |
| 碳 | 15～18 | 钠 | ～0.02 | 钛 | ～0.0001 | 氟 | ～0.00001 |
| 钾 | 0.3～3 | 钙 | ～0.02 | 锶 | ～0.0001 | 钼 | ～0.00001 |
| 氮 | 0.3～1 | 铝 | ～0.02 | 钒 | ～0.0001 | 铯 | ～0.00001 |
| 磷 | ～0.1 | 钴 | ～0.02 | 锆 | ～0.0001 | 锂 | ～0.00001 |
| 锰 | ～0.1 | 铬 | ～0.0005 | 铅 | ～0.0001 | 氯 | ～0.00001 |
| 硅 | ～0.1 | 铷 | ～0.0005 | 硼 | ～0.0001 | 碘 | ～0.00001 |
| 镁 | ～0.1 | 锌 | ～0.0003 | 镉 | ～0.0001 | | |

## 二、植物必需的矿质元素和确定方法

### （一）植物的必需矿质元素

虽然在各种植物体内已发现有 70 种以上的元素，但这些元素并不都是植物的正常生长发育所必需的。某一元素是否对植物的生长发育是必需的，并不一定取决于该种元素在植物体内的含量。植物的必需元素（essential element 或 essential nutrient）是指植物正常生长发育必不可少的营养元素。

判断某种元素是否为植物的必需元素有三条标准，即不可缺少性、不可替代性、直接功能性。所谓不可缺少性是指缺乏该元素时，植物生长发育明显受到抑制，以致不能完成生活史；不可替代性指缺少该元素所造成的营养缺乏症状只能通过加入该元素的方法预防或恢复，而加入其他任何元素均不能替代该元素的作用；直接功能性指该元素对植物生长发育的影响是由于该元素的直接作用而造成的，并不是由于该元素通过影响土壤的物理化学性质、微生物生长条件等原因而产生的间接效果。根据上述标准，现已确定的植物必需营养元素有 17 种。其中必需矿质元素（包括氮素）共有 14 种，它们是氮、磷、钾、钙、镁、硫、铁、铜、硼、锌、锰、钼、镍、氯；植物自大气和水中摄取的非矿质必需元素为碳、氢、氧（表 5-2）。

需要说明的是，国际植物生理学界对植物必需元素种类的确定尚存一些争议。表 5-2 列出了 17 种植物的必需元素，主要依据是 F. B. Salisbury 和 C. W. Ross 编著的 *Plant Physiology*（1992 年出版）和 Bob Buchanan 等人编著的 *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*（2000 年出版）两书的内容。但由 L. Taiz 和 E. Zeiger 编著的 *Plant Physiology*（1998 年第二版）则列出了 19 种植物必需元素，即除了上述 17 种外还包括了钠（Na）和硅（Si）。其中关于钠是否为植物的必需元素一直存在争议，因为有些盐生植物的正常生长发育确实需要摄取大量的钠，而且在有些情况下利用其他元素（如同为一价阳离子的钾）还不能完全替代钠的作用。而硅对有些植物（特别是如水稻等禾本科植物）的

**表 5-2 植物的必需元素**

| 元素 | 化学符号 | 植物利用的形式 | 原子量 | 在干物质中的浓度/% | 与钼相比较的相对原子数量* |
|---|---|---|---|---|---|
| **大量元素** | | | | | |
| 氢 | H | $H_2O$ | 1.01 | 6 | 60 000 000 |
| 碳 | C | $CO_2$ | 12.01 | 45 | 35 000 000 |
| 氧 | O | $O_2$, $H_2O$ | 16.00 | 45 | 30 000 000 |
| 氮 | N | $NO_3^-$, $NH_4^+$ | 14.01 | 1.5 | 1 000 000 |
| 钾 | K | $K^+$ | 39.10 | 1.0 | 250 000 |
| 钙 | Ca | $Ca^{2+}$ | 40.08 | 0.5 | 125 000 |
| 镁 | Mg | $Mg^{2+}$ | 24.32 | 0.2 | 80 000 |
| 磷 | P | $H_2PO_4^-$, $HPO_4^{2-}$ | 30.98 | 0.2 | 60 000 |
| 硫 | S | $SO_4^{2-}$ | 32.07 | 0.1 | 30 000 |
| **微量元素** | | | | | |
| 氯 | Cl | $Cl^-$ | 35.46 | 0.010 | 3 000 |
| 铁 | Fe | $Fe^{2+}$, $Fe^{3+}$ | 55.85 | 0.010 | 2 000 |
| 硼 | B | $H_3BO_3$ | 10.82 | 0.002 | 2 000 |
| 锰 | Mn | $Mn^{2+}$ | 54.94 | 0.0050 | 1 000 |
| 锌 | Zn | $Zn^{2+}$ | 65.38 | 0.0020 | 300 |
| 铜 | Cu | $Cu^{2+}$, $Cu^+$ | 63.54 | 0.00006 | 100 |
| 镍 | Ni | $Ni^{2+}$ | 58.69 | 0.00001 | 2 |
| 钼 | Mo | $MoO_4^{2-}$ | 95.95 | 0.00001 | 1 |

* 与钼相比较的相对原子数量指以植物体内钼元素的原子数为 1 时该元素的相对原子数量。

生长发育也确实有积极影响，除了可能的直接功能外，对植物抵御病原菌的侵染等有特别重要的作用。事实上，其他矿质元素中有的也对植物生长发育有显著影响，如在有些植物的培养液中加入少量铝可显著促进其生长发育，但过量的铝又对大部分植物的生长有负面影响。我们认为，这种不同意见的存在可能正是反映了在植物必需营养元素的确定方面仍有进一步深入研究的必要，面有关植物必需元素种类的确定与研究者所关注的科学问题（研究角度）及所掌握标准的严格程度也有关系。如对某种元素的必需性是否是对大部分已经研究过的植物种类而言，因为不同植物对某一元素的必需性有可能是不同的，如钠对盐生植物和非盐生植物的影响和作用就是截然不同的。其次，对有些植物体内含量甚微的元素，确定其是否为必需元素还取决于分析测定方法的灵敏度和精确度。当分析测定方法还不足以对某种微量元素进行准确的分析测定时，确定其是否为必需元素则显然是不可能的。总之，随着研究工作的进一步深入和元素分析测定技术的发展，特别是对植物体内各种元素的确切生理生化功能的明确，人们对植物必需元素的种类会不断地有进一步的认识。

根据植物体内各种必需元素的含量，一般将其分为大量元素（macroelement 或 macronutrient）和微量元素（microelement 或 micronutrient；有时也称作 trace element）两大类。如表 5-2 所示，植物的大量必需元素包括碳（C）、氢（H）、氧（O）、氮（N）、磷（P）、钾（K）、钙（Ca）、镁（Mg）、硫（S）9 种，此类元素分别约占植物体干重的 0.01% ～10%；微量元素有氯（Cl）、铁（Fe）、硼（B）、锰（Mn）、锌（Zn）、铜（Cu）、镍（Ni）、钼（Mo）8 种，这些元素各自约占植物体干重的 $1\times10^{-5}$% ～$1\times10^{-2}$%。

## （二）确定植物必需矿质元素的研究方法

由于植物体内所含的元素并不一定是植物的必需元素，因此分析植物灰分中各种元素的组成并不能确定某种矿质元素是否为必需元素。可靠的方法是在人为严格控制植物生长环境（如土壤、非土

壤培养基、培养液等)中各种元素组成的条件下，对照植物必需元素的三条标准，逐一地分析各种元素的存在与否是否对植物生长发育有符合必需元素条件的影响。显然，利用成分复杂的天然土壤培养植物无法进行这样的实验工作。通常利用人为配制的、可控制成分的营养液(nutrient solution)培养植物(即"溶液培养法"或称"水培法")，以确定各种营养元素的必需性。此外，各种溶液培养方法已经被广泛地应用于实验室研究工作、工厂化育苗、甚至较大规模的产业化生产过程。

溶液培养法亦称水培法(solution culture 或 hydroponics)，是在含有全部或部分营养元素的溶液中培养植物的方法。最简单的溶液培养法是直接将植物的根系浸没于营养液中而进行植物培养；而砂基培养法则是在洗净的石英砂等基质中加入营养液、利用砂基作为固定植物根系的支持物来培养植物的方法，与溶液培养法并无实质性的不同。除去技术条件方面的要求，植物溶液培养方法的关键是培养液或营养液的组成及理化条件。首先，培养液中应按照植物生长发育的需求而按一定比例和一定浓度加入所有必需的矿质营养元素即所谓配制平衡营养溶液，同时也要注意溶液的酸碱度等理化条件、防止某些成分之间发生反应形成不溶物等。表 5-3 列出了 3 种常用的植物营养液配方，其中又以 Hoagland 营养液最为常用。在利用水培法培养植物时要注意对溶液系统的通气、防止光线对根系的直接照射等。

**表 5-3 几种常用的营养液配方**

| 成分 | Sach 营养液 /(g / L) | Knop 营养液 /(g / L) | Hoagland 营养液 /(g / L) |
|---|---|---|---|
| $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ | — | 0.8 | 1.18 |
| $NaCl$ | 0.25 | -- | - |
| $KNO_3$ | 1.0 | 0.2 | 0.51 |
| $Ca_3(PO_4)_2$ | 0.5 | — | -- |
| $CaSO_4$ | 0.5 | — | - |
| $K_2HPO_4$ | — | 0.2 | 0.14 |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0.5 | 0.2 | 0.49 |
| $FePO_4$ | 微量 | — | — |
| $FeSO_4$ | — | 微量 | — |
| $FeC_4H_4O_6$ | | — | 0.005 |
| $H_3BO_3$ | — | — | 0.0029 |
| $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ | — | | 0.0018 |
| $ZnSO_4$ | — | | 0.00022 |
| $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ | -- | — | 0.00008 |
| $H_2MoO_4$ | — | -- | 0.00002 |

在研究植物的必需矿质元素时，可在配制的营养液中除去或加入某一元素，以观察植物的生长发育情况及其变化。如果在培养液中除去某一元素导致植物生长发育不良、并出现特有的病症，而当加入该元素后症状又消失，则说明该元素为植物的必需元素。如果自营养液中除去某一元素对植物的生长发育无明显的不良影响，且植物也不表现明显的病症，则该元素不是植物的必需元素。

图 5-1 是几种常用的植物无土栽培装置示意图。除了传统的溶液培养方法(图 5-1A)外，现在工厂化育秧或蔬菜种植则多采用营养膜培养系统(图 5-1B)。在营养膜培养系统中，利用水泵将营养液循环利用，使植物根部经常保持流动的营养液膜层；被循环利用的营养液的 pH 和营养成分可通过自动控制装置不断予以调节或补充。由植物的水培方法还发展出有氧溶液培养法或简称气培法(aeroponics)或称雾培法。如图 5-1C 所示，气培法是将植物根系置于营养液气雾中培养植物的方法，植物根系并不直接浸入营养液。

根据表 5-3 所列配方配制的营养液在使用时常常稀释，特别是对于培养蒸腾量较大的植物材料时尤其应注意稀释。例如，一般在实验室水培拟南芥时多使用 1/4(稀释 4 倍)或 1/8(稀释 8 倍)的 Hoagland 营养液。

由于不同植物对各种营养元素的相互比例要求不同，人们在实验工作或生产实践中又分别针对不同植物的特点而配制和使用特殊的营养液，如表 5-4 列出了适宜于培养水稻的营养液配方。

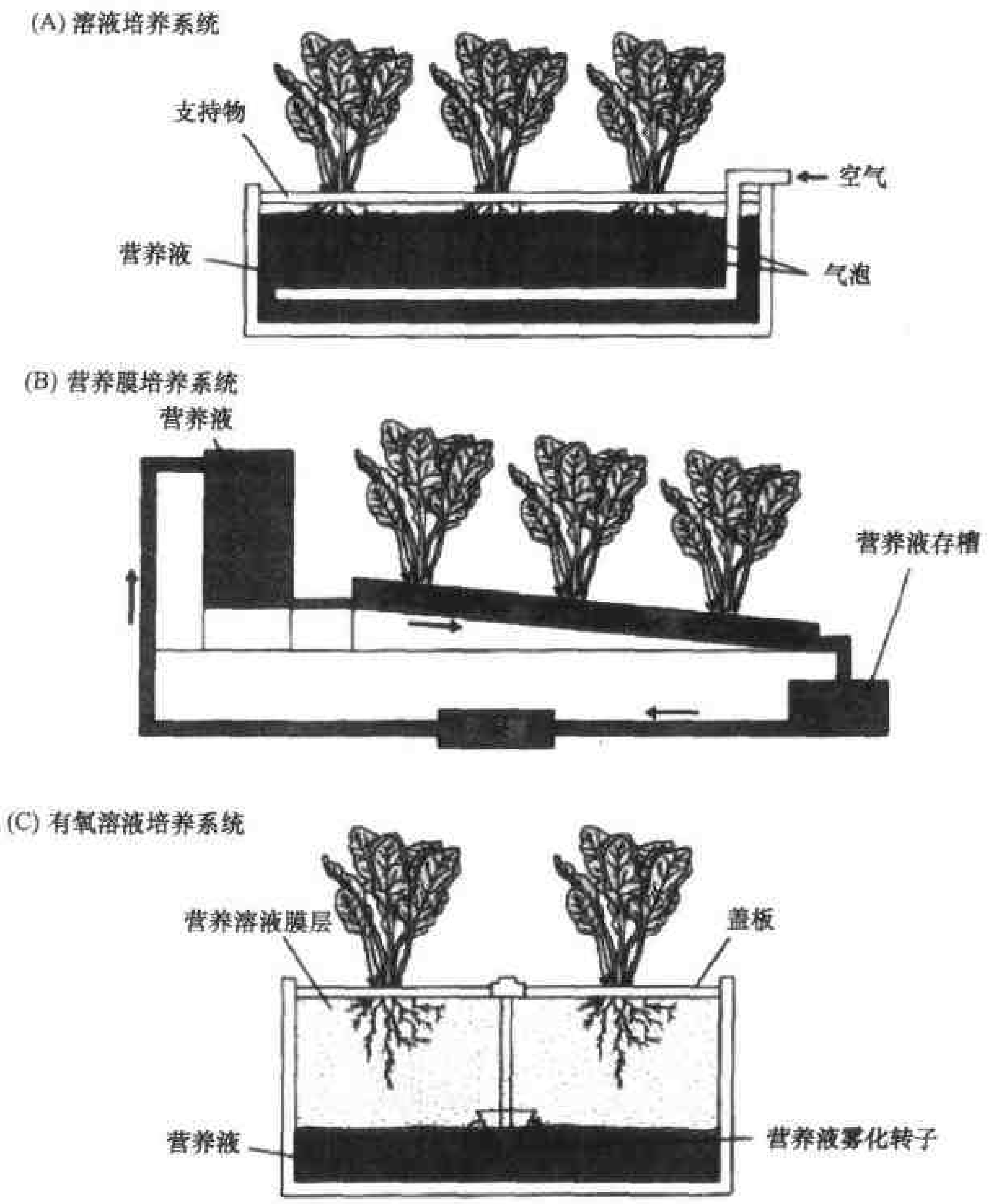



图 5-1　植物无土栽培装置示意图(Taiz & Zeiger　1998)

(A)水培装置，将植物根部直接浸入营养液，利用气泵向营养液通气补充氧气；(B)常用于工厂化生产的营养膜培养系统，利用水泵将营养液循环利用，在植物根部保持流动的营养液膜层；被循环利用的营养液的 pH 和营养成分可通过自动控制装置不断予以调节或补充；(C)有氧溶液培养系统，植物根不直接浸入营养液，利用浸入营养液的电动旋转装置在培养槽中产生雾状营养液。

表 5-4　适于水稻的 Espino 培养液

| 试　剂 | 浓度/(g / L) | 试　剂 | 浓度/(mg / L) |
|---|---|---|---|
| $Ca(NO_3)\cdot 4H_2O$ | 0.089 | $H_3BO_2$ | 2.86 |
| $MgSO_4\cdot 2H_2O$ | 0.250 | $ZnSO_4\cdot 7H_2O$ | 0.22 |
| $(NH_4)_2SO_4$ | 0.049 | $MnCl_2\cdot 2H_2O$ | 1.81 |
| $KH_2PO_4$ | 0.034 | $CuSO_4\cdot 5H_2O$ | 0.08 |
| $FeCl_2$ | 0.030 | $H_2MoO_4\cdot 4H_2O$ | 0.02 |

## 三、植物必需元素的主要生理功能概述

必需元素在植物生长发育过程中的生理功能概括起来主要有以下几个方面：一是作为活细胞结构的物质组成成分，如细胞壁和细胞膜等结构中存在的钙离子对稳定这些结构有重要作用；二是作为能量转换过程中的电子载体，如铁和铜离子在呼吸和光合电子传递中作为不可或缺的电子载体的作用；三是作为活细胞电化学平衡的重要介质，在稳定细胞质的电荷平衡、维持适当的跨膜电位等方面

有重要作用；四是作为活细胞的重要渗透物质调节细胞的膨压，如钾离子、氯离子等在细胞渗透压调节中的重要作用；五是作为重要的细胞信号转导信使，如钙离子已被证明是细胞信号转导中的重要第二信使；等等。

以下简述氮素和各种必需矿质元素的生理功能以及缺乏该种元素时植物表现的症状。

## （一）氮

根系吸收的氮主要是无机态氮，即铵态氮和硝态氮，也可吸收一部分有机态氮，如尿素。

氮是蛋白质、核酸、磷脂及其他植物生长发育所必需的有机氮化合物的构成成分，而这些物质是活细胞赖以生存的结构或功能成分，因此氮被称为生命的元素。氮是许多辅酶和辅基如 $NAD^+$、$NADP^+$、FAD 等、以及叶绿素分子结构的成分。氮还是某些植物激素（如生长素和细胞分裂素）、维生素（如 $B_1$、$B_2$、$B_2$、PP 等）分子结构的成分，这些物质是植物生长发育的重要调节成分。植物次生代谢中的许多中间产物分子结构中也含有氮元素。

由于氮元素具有多种重要的生理生化功能，所以植物生长环境中氮元素供应是否充足直接影响细胞的分裂和生长及整体的生长发育。

当氮肥供应充足时，植株枝叶繁茂、躯体高大、分蘖（分枝）能力强，籽粒中含蛋白质高。在除碳、氢、氧外的植物必需元素中，植物的正常生长发育对氮的需要量最大。因此，在作物栽培中应特别注意氮肥的供应。作物生产中常用的人粪尿、尿素、硝酸铵、硫酸铵、碳酸氢铵等肥料，主要是供给作物生长以氮素营养。当然，过量施用氮肥也会对植物生长发育造成负面影响，如植株徒长、根冠比较小、营养生长过盛而影响生殖生长等。同时，过量施用氮肥也会对环境造成污染。

植物在生长发育过程中缺氮时，细胞的许多生理生化活动受到影响，如一些重要物质（如蛋白质、核酸等）的合成受阻、功能蛋白的活性降低、细胞的生长分裂减缓等等。结果造成植物生长矮小，分枝、分蘖很少，叶片小而薄，花果少且易脱落。缺氮还会影响叶绿素的合成，使枝叶变黄，叶片早衰甚至干枯，从而导致产量降低。因为植物体内氮的移动性大，老叶中的氮化物分解后可运到幼嫩组织中去被重复利用，所以缺氮时叶片发黄，并由下部叶片开始逐渐向上发展。这是缺氮症状的显著特点。

氮素供应过多时，植物叶片大而深绿，植株柔软披散、徒长，体内含糖量相对不足，茎秆中的机械组织不发达，易造成倒伏和被病虫害侵害等。

## （二）磷

磷主要以 $H_2PO_4^-$ 或 $HPO_4^{2-}$ 的形式被植物吸收。植物吸收 $H_2PO_4$ 或 $HPO_4^{2-}$ 的比例取决于土壤 pH。当土壤偏酸性（pH＜7）时，植物吸收 $H_2PO_4$ 较多；而当土壤偏碱性（pH＞7）时，植物吸收 $HPO_4^{2-}$ 较多。当 $H_2PO_4^-$ 或 $HPO_4^{2-}$ 被吸收进入根系、并经木质部被运送到地上部分的组织或器官后，大部分被用于合成有机物质如磷脂、核苷酸等，有一部分则以无机磷形式存在、与 ATP 和 ADP 之间的转换平衡相关。植物体中磷元素的分布很不均匀，根、茎的生长点较多，嫩叶比老叶多，果实、种子中也较丰富。

磷是核酸、核蛋白、磷脂等活细胞内多种功能性物质的重要成分，与活细胞的能量代谢、各种有机物的合成和分解代谢、细胞信号转导、基因表达调控等等过程密切相关。磷是许多辅酶如 $NAD^+$、$NADP^+$ 等的成分，它们参与了光合、呼吸过程。磷是植物体内能量转换的重要介质元素，在 ADP 和 ATP 中的磷酸高能键是大多数生化代谢反应所需能量的来源。对蛋白质磷酸化和去磷酸化的研究表明，许多功能蛋白的活性调控是通过磷酸化和去磷酸化而实现的。例如，近年来在植物中发现了一类受体样蛋白激酶（丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶），这是一类能直接感受并传递活细胞对环境刺激响应信息的兼具受体和蛋白激酶功能的重要蛋白，此类蛋白位于膜上，其膜外侧的受体结构域能识别和感受

刺激信号，而其膜内侧的激酶活性位点则能通过对靶蛋白结构中的丝氨酸/苏氨酸残基的磷酸化而实现信号传递（参见第十八章）。磷对氮代谢有重要作用，如硝酸还原有 $NAD^+$ 和 FAD 的参与，而磷酸吡哆醛和磷酸吡哆胺则参与氨基酸的转化等。磷与脂肪转化有关系，脂肪代谢需要 NADPH、ATP、CoA 和 $NAD^+$ 的参与。磷还参与植物体内碳水化合物的代谢和运输，如在光合作用和呼吸作用过程中，各种糖的中间产物的合成、转化、降解大多是以磷酸化的形式参与反应的。

由于磷参与多种代谢过程，而且在生命活动最旺盛的分生组织中含量较高，因此在作物栽培中适量施磷对植株的分蘖、分枝以及根系生长都有良好作用。由于磷促进碳水化合物的合成、转化和运输，对种子、块根、块茎的生长有利，故马铃薯、甘薯和禾谷类作物施磷后有明显的增产效果。由于磷与氮的供应密切相关，所以缺氮时，磷肥的效果就不能充分发挥。只有氮磷配合施用，才能充分发挥磷肥效果。

植物在生长发育过程中缺少磷的供应会影响细胞生长和分裂，使分蘖分枝减少，幼芽、幼叶生长停滞，茎、根纤细，植株矮小，花果脱落，成熟延迟；缺磷时，植物体内蛋白质合成下降、糖的运转受阻，从而使营养器官中糖的含量相对提高，这有利于花青素的形成，故缺磷时叶子呈现不正常的暗绿色或紫红色（图 5-2，见书末彩图，下同），这是缺磷的较典型病症。

由于磷元素非常活跃地参与各种物质的合成与分解代谢，因此在植物体内易移动及被重复利用。植物缺磷时老叶中的磷能被迅速转移至正在生长的幼嫩组织中去，因此，植株缺磷的症状首先在老叶出现，并逐渐向较幼嫩的组织或器官发展。

磷肥施用过多时，植株叶片组织会出现小焦斑，系磷酸钙沉淀所致。磷过多还会阻碍植物对硅的吸收，易招致水稻感病。水溶性磷酸盐能与土壤中的锌、钙等二价阳离子结合，减少这些元素的有效性，故施用磷酸盐过多可导致植株发生缺锌、缺钙等症状。

### （三）钾

钾在土壤中以 KCl、$K_2SO_4$ 等盐类形式存在，在土壤溶液或水中解离成 $K^+$ 而被植物根系吸收。植物细胞吸收钾离子是通过其细胞膜上的钾离子通道或载体进行的（参见第四章）。在植物体内钾呈离子状态。植物体的所有活细胞的细胞质中均含有大量钾离子，而在幼嫩的植物组织和器官中（如生长点、形成层、幼叶）以及生理生化活动较为活跃的组织和器官（如功能叶片、幼根等）则相对含量更高。植物细胞的细胞质内通常含有 80～100 mmol/L 的钾离子，而在一些代谢极为活跃的细胞中则含量更高，如在进行光合作用的叶肉细胞中，钾离子的含量可高达 200～250 mmol/L。不同植物吸收和积聚钾的能力有所不同，因而不同植物体内的含钾量也显著不同。虽然大多数植物体内的含钾量约占其干重的 0.3%～3%，但有些能够富集钾的植物体内钾含量可达干重的 5%～8%（如苋科的空心莲子草）。研究这些能够富集钾的植物吸收、积累钾的生理及分子遗传机制，有可能使将来利用分子育种的手段而改良作物的钾营养性状。

尽管还不太清楚钾离子调节许多功能蛋白活性的机理，但钾离子何以显著提高活细胞中许多酶及其他功能蛋白的活性却早已被证实，如钾离子可以显著地激活丙酮酸激酶、果糖激酶、苹果酸脱氢酶、琥珀酸脱氢酶、淀粉合成酶、琥珀酰 CoA 合成酶、谷胱甘肽合成酶等。钾有促进蛋白质合成的作用，钾充足时，植物体内合成蛋白质较多，从而使可溶性氮减少。钾与蛋白质在植物体中的分布是一致的，例如在生长点、形成层等蛋白质丰富的部位，钾离子含量也较高。富含蛋白质的豆科植物的籽粒中钾的含量比禾本科植物高。钾与糖类的合成及运转密切相关。大麦和豌豆幼苗缺钾时，淀粉和蔗糖合成缓慢，从而导致单糖大量积累；而钾肥充足时，蔗糖、淀粉、纤维素和木质素含量较高，葡萄糖积累则较少。钾也能促进糖类物质被运输到贮藏器官中，所以在富含糖类的贮藏器官（如马铃薯块茎、甜菜根和淀粉种子）中钾含量较多。此外，韧皮部汁液中含有较高浓度的 $K^+$，约占韧皮部阳离子

总量的80%。从而推测$K^+$对韧皮部运输也有作用。因此钾在碳水化合物代谢、呼吸作用及蛋白质代谢中起重要作用。

$K^+$是大多数植物活细胞中含量最高的无机离子，因此也是调节植物细胞渗透势的最重要组分。在根组织内，$K^+$从薄壁细胞转运至木质部，从而降低了木质部的水势，使水分能从根系表面源源不断地被转运到木质部中去(参见第三章)。$K^+$通过对叶片气孔保卫细胞渗透势的调节而显著地调控气孔的开、闭运动，从而影响植物的蒸腾作用(参见第二章)。离子态的钾，有使原生质胶体膨胀的作用，故施钾肥能提高作物的抗旱性。$K^+$还是植物细胞中最重要的电荷平衡成分，在维系活细胞正常生命活动所必需的跨膜(质膜、液泡膜、叶绿体膜、线粒体膜等)电位中有不可替代的作用。

植物在生长发育过程中缺少钾供应时，植株茎秆柔弱、易倒状，抗旱、抗寒性降低，叶片失水，蛋白质、叶绿素等物质被分解破坏，叶色变黄而叶组织逐渐坏死。缺钾时还会出现叶缘焦枯，生长缓慢等现象，由于叶中部生长仍较快，所以整个叶子会形成杯状弯曲，或发生皱缩(图5-2)。钾也是易移动可被重复利用的元素，故缺素症状首先出现在较老的组织或器官(如老叶)。

以上简要介绍了氮、磷、钾三种元素的一些重要生理生化功能。由于植物生长发育需要大量的氮、磷、钾，土壤中的氮、磷、钾浓度或含量会随着耕种作物而大幅度下降，因此在作物栽培过程中应特别注意施用氮、磷、钾肥。氮、磷、钾肥也被称为作物栽培的"肥料三要素"。在施用氮、磷、钾肥时，应特别注意三者之间的比例。对于大多数作物，氮、磷、钾肥的施用比例约为1：(0.4～0.5)：(0.3～0.4)，当然对于不同作物、或同种作物的不同品种而言，氮、磷、钾肥的施用比例也应有所不同。从我国作物生产的总体情况来看，由于我国的磷、钾矿物资源严重匮乏，磷、钾肥生产及供应量不足，生产实践中施用氮肥的比例过高，而磷、钾肥的施用量严重不足。因此，在作物栽培实践中应特别注意氮、磷、钾肥的施用比例，即所谓"平衡施肥"。

### (四) 钙

钙元素以钙离子($Ca^{2+}$)的形式被植物吸收利用。钙离子进入植物体后一部分仍以离子状态存在，一部分形成难溶的有机盐类(如草酸钙等)，还有一部分与有机物(如植酸、果胶酸、蛋白质)相结合。钙在植物体内主要分布在老叶、贮藏器官或其他衰老或死亡的组织中。在活细胞的细胞质内，游离钙离子的浓度非常低(约在$1\times10^{-7}\sim1\times10^{-8}$mol/L的水平)。但在活细胞的内膜系统中则钙离子浓度较高，如液泡中的钙离子浓度可达$1\times10^{-2}\sim1\times10^{-3}$mol/L的水平。

钙是植物细胞壁胞间层中果胶酸钙的重要成分，因此，缺钙时，细胞分裂不能进行或不能完成，而形成多核细胞。钙离子能作为磷脂中的磷酸与蛋白质的羧基间联结的桥梁，具有稳定膜结构的作用。钙可与植物体内的草酸形成草酸钙结晶，消除过量草酸对植物(特别是一些含酸量高的肉质植物，如景天科植物)的毒害。

钙对植物抵御病原菌的侵染有一定作用，钙供应不足时，许多作物容易产生病害。一些水果和蔬菜的生理病害也是因缺钙引起的。苹果果实的疮痂病会使果皮受到伤害，但如果供钙充足，则易形成愈伤组织以防止果肉受到进一步伤害。钙也是一些酶的活化剂，如由ATP水解酶、磷脂水解酶等酶催化的反应都需要钙离子的参与。

钙离子是植物活细胞信号转导过程的重要第二信使，通过许多种依赖钙的调节蛋白和功能蛋白，钙信使几乎在植物细胞的所有信号转导途径中发挥重要作用。有关内容详见第十八章"植物细胞信号转导"。

缺钙初期顶芽、幼叶呈淡绿色，继而叶尖出现典型的钩状，随后坏死(图5-2)。钙是不易被转运和重复利用的元素，故缺素症状首先表现在地上部幼茎、幼叶上，如大白菜缺钙时心叶呈褐色。

## （五）镁

镁以离子状态被吸收进入植物体，它在体内一部分与有机物结合，另一部分仍以游离的离子状态存在。

镁是叶绿素分子的构成成分，又是 RuBP 羧化酶、5-磷酸核酮糖激酶等参与光合碳代谢的酶的活化剂；镁离子在叶绿体基质与类囊体基质之间起着电荷平衡的重要作用，镁离子还是 ATP 酶的激活剂。因此镁离子对光合作用有至关重要的作用。此外镁离子是葡萄糖激酶、果糖激酶、丙酮酸激酶、乙酰 CoA 合成酶、异柠檬酸脱氢酶、$\alpha$-酮戊二酸脱氢酶、苹果酸合成酶、谷氨酰半胱氨酸合成酶、琥珀酰辅酶 A 合成酶等酶的活化剂，因而与碳水化合物的转化和降解以及氮代谢密切相关。镁离子还是核糖核酸聚合酶的活化剂，对 DNA 和 RNA 的合成有重要调控作用。具有合成蛋白质能力的核糖体是由许多亚单位组成的，而镁能使这些亚单位结合形成稳定的复合结构。如果镁的浓度过低[如用乙二胺四乙酸(EDTA)处理以使游离的镁离子被螯合]，则核糖体的复合结构解体为亚单位，导致其丧失合成蛋白质的功能。而且，镁离子还参与蛋白质合成中氨基酸的活化过程。

镁离子供应短缺时导致叶绿素合成受阻，最终使叶片贫绿，其特点是首先从叶片边缘开始枯黄，而叶脉较多的叶中央可仍保持一定绿色(图 5-2)，这是与缺氮症状的主要区别。严重缺镁时可引起叶片的早衰与脱落，最终导致整株枯黄、死亡。

## （六）硫

硫元素主要以 $SO_4^{2-}$ 的形式被植物吸收。$SO_4^{2-}$ 进入植物体后，一部分仍以 $SO_4^{2-}$ 的形式存在，而大部分则被还原而同化为含硫氨基酸（如胱氨酸、半胱氨酸和蛋氨酸）。这些含硫氨基酸是蛋白质的重要组成成分，特别是这些含硫氨基酸残基往往是功能蛋白的活性中心所在。一些功能蛋白的活性调控也往往通过这些含硫氨基酸残基的二硫键(—S—S—)与巯基(硫氢基，—SH基)之间的氧化还原转换而完成。蛋白质中含硫氨基酸间的—SH基与—S—S—的转换还具有调节植物体内的氧化还原反应、稳定蛋白质空间结构等作用。辅酶 A 和硫胺素、生物素等维生素也含有硫，且辅酶 A 中的硫氢基(—SH)具有贮藏能量的作用。硫还是硫氧还蛋白、铁硫蛋白与固氮酶的组分，因而硫在光合电子传递、豆科植物根瘤中根瘤菌的固氮作用过程中起重要作用。

硫元素在植物体内不易移动，缺硫时一般在幼叶首先表现缺绿症状，且新叶均衡失绿，呈黄白色并易脱落。缺硫情况在作物栽培实践中很少遇到，因为土壤中有足够的硫满足植物需要。

## （七）铁

铁主要以 $Fe^{2+}$ 的螯合物被吸收。铁进入植物体内之后就处于较为固定的状态而不易被转运。铁离子在植物体内以二价($Fe^{2+}$)和三价($Fe^{3+}$)两种形式存在，二者之间的转换构成了活细胞内最重要的氧化还原系统，因此 $Fe^{2+}/Fe^{3+}$ 是许多与氧化还原相关的酶的辅基，如细胞色素、细胞色素氧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶、豆科植物根瘤菌中的血红蛋白等；$Fe^{2+}/Fe^{3+}$ 也是光合和呼吸电子传递链中的重要电子载体，如光合和呼吸电子传递链中的细胞色素、光合电子传递链中的铁硫蛋白和铁氧还蛋白等都是含铁蛋白。

铁是合成叶绿素所必需的，虽然其具体机制尚不清楚，但催化叶绿素合成的酶中有几个酶的活性表达需要 $Fe^{2+}$。植物在生长发育过程中缺铁时，由于叶绿素合成受阻而导致叶片发黄(图 5-2)。近年来发现，铁对叶绿体构造的影响比对叶绿素合成的影响更大，如眼藻虫(*Euglena*)缺铁时，在叶绿素分解的同时叶绿体也解体。

铁是不易被重复利用的元素，因而缺铁最明显的症状是幼芽幼叶缺绿发黄，甚至变为黄白色，而

下部叶片仍为绿色。一般情况下土壤中的含铁量能满足植物生长发育的需要，但在碱性或石灰质土壤中，铁易形成不溶性的化合物而使植物表现出缺铁症状。

## （八）铜

在通气良好的土壤中，铜多以二价离子($Cu^{2+}$)的形式被吸收，而在潮湿缺氧的土壤中，则多以一价离子($Cu^{+}$)的形式被吸收。

与铁离子的情况类似，铜离子在植物体内以一价($Cu^{+}$)和二价($Cu^{2+}$)两种形式存在，二者之间的转换构成了活细胞内又一重要的氧化还原系统，因此 $Cu^{+}/Cu^{2+}$ 是许多与氧化还原相关的酶的辅基，如铜作为多酚氧化酶、抗坏血酸氧化酶等的辅基起传递电子的作用，在呼吸作用的氧化还原反应中起重要作用。铜也是质体蓝素的成分，参与光合电子传递。

有研究表明，铜具有提高马铃薯抗晚疫病的能力，所以喷硫酸铜对防治该病有良好效果。

植物缺铜时，叶片生长缓慢，呈现蓝绿色，幼叶缺绿(图 5-2)，随之出现枯斑，最后死亡脱落。另外，缺铜会导致叶片栅栏组织退化，气孔下面形成空腔，使植株即使在水分供应充足时也会因蒸腾过度而发生萎蔫。

## （九）硼

硼以硼酸($H_3BO_3$)的形式被植物吸收。高等植物体内硼的含量较少，约在 2～95mg/L 范围内。植株各器官间硼的含量以花器官中最高，花中又以柱头和子房为高。硼与花粉形成、花粉管萌发和受精有密切关系。缺硼时花药花丝萎缩、花粉母细胞不能向四分体分化、授粉后的花粉不能萌发。用$^{14}C$标记的蔗糖试验证明，硼参与糖的运转与代谢。硼有激活尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶的作用，故能促进蔗糖的合成。尿苷二磷酸葡萄糖(UDPG)不仅可参与蔗糖的生物合成，而且在合成果胶等多种糖类物质中也起重要作用。硼还能促进植物根系发育，特别对豆科植物根瘤的形成影响较大，因为硼能影响碳水化合物的运输，从而影响根对根瘤菌碳水化合物的供应。因此，缺硼可阻碍根瘤形成，降低豆科植物的固氮能力。此外，用$^{14}C$-氨基酸的标记试验发现，缺硼时很少有新的蛋白质合成。

不同植物对硼的需要量不同，油菜、花椰菜、萝卜、苹果、葡萄等需硼较多，需注意充分供给；棉花、烟草、甘薯、花生、桃、梨等需量中等，要防止缺硼；水稻、大麦、小麦、玉米、大豆、柑橘等需硼较少，若发现这些作物出现缺硼症状，说明土壤缺硼已相当严重，应及时补给。

缺硼时，植株的有性生殖过程受阻而导致结实减少。小麦出现的“花而不实”和棉花上出现的“蕾而不花”等现象都有可能与缺硼有关。

缺硼时根尖、茎尖的生长点停止生长，侧根侧芽大量发生，其后侧根侧芽的生长点又死亡，而形成簇生状。甜菜的干腐病、花椰菜的褐腐病、马铃薯的卷叶病和苹果的缩果病等都与缺硼的因素有关。

## （十）锌

锌以二价离子($Zn^{2+}$)的形式被植物吸收。锌是色氨酸合成酶的必要成分，缺锌时植物合成色氨酸的反应受阻，而色氨酸是合成生长素的前体。因此缺锌时植株的生长素(吲哚乙酸)合成过程受到抑制，从而导致植物生长受阻，出现通常所说的“小叶病”(图 5-2)，如苹果、桃、梨等果树缺锌时叶片小而脆，且丛生在一起，叶上还出现黄色斑点。我国北方地区果园在春季易出现此病。

锌是碳酸酐酶的成分，此酶催化 $CO_2 + H_2O \longrightarrow H_2CO_3$ 的反应。由于被植物吸收和释放的 $CO_2$ 通常都先溶于水，而这一反应由碳酸酐酶催化，故缺锌时呼吸和光合作用均会受到影响。锌也是谷氨酸脱氢酶及羧肽酶的组成成分，因此在氮代谢中也起一定作用。

## （十一）锰

锰主要以 $Mn^{2+}$ 形式被植物吸收。由于锰离子可以多种不同化合价的形式存在，因此是植物细胞中与氧化还原、电子传递等过程密切相关的元素。锰是叶绿体中光合放氧复合体的重要组成，由于光合放氧复合体的不同氧化状态是由锰原子的不同氧化状态所决定的，因此缺锰时光合放氧将受到抑制（详见第六章“光合作用 I:植物对光能的吸收与转换”）。锰也是维持叶绿素正常结构的必需元素。此外，锰是许多酶的活化剂，如一些转移磷酸的酶和三羧酸循环中的柠檬酸脱氢酶、草酰琥珀酸脱氢酶、α-酮戊二酸脱氢酶、苹果酸脱氢酶、柠檬酸合成酶等。锰还是硝酸还原的辅助因素，缺锰时硝酸被还原成氨的过程受到抑制，进而使氨基酸和蛋白质的合成受阻。总之，锰与植物的光合、呼吸、叶绿素和蛋白质的合成等重要代谢过程密切相关。

缺锰时植物不能形成叶绿素，叶脉间失绿褪色，但叶脉仍保持绿色，叶片自叶缘开始枯黄，此为缺锰与缺铁的主要区别(图 5-2)。

## （十二）钼

钼以钼酸盐（$MoO_4^{2-}$）的形式被植物吸收。钼是硝酸还原酶的组成成分，缺钼则硝酸的还原过程受到抑制，植株表现出缺氮病症。豆科植物根瘤菌的固氮过程必需钼的参与，因为 $N_2$的还原是在固氮酶的催化下进行的，而固氮酶是由铁蛋白和铁钼蛋白组成的。

缺钼时植株叶片较小、叶脉间失绿、叶片上有坏死斑点，且叶边缘焦枯，向内卷曲。十字花科植物缺钼时叶片卷曲畸形，老叶变厚且枯焦。禾谷类作物在缺钼时则籽粒皱缩或不能形成籽粒。

## （十三）镍

镍在 1988 年才被确定为植物的必需元素(Dalton et al. 1988)。在表 5-2 所列的 17 中必需元素中，植物体内镍的含量几乎是最低的，可能是由于测定技术上的原因，使得镍一直未能被确定为必需元素。后来的研究结果证明，即便是在培养液中绝对不加入镍，仅仅是种子中残留的微量镍也足以使其后代完成生活史。1987 年有人报道，经过连续三代进行无镍培养后所获得的大麦种子不能萌发，证明了镍是植物的必需元素。镍以 $Ni^{2+}$ 的形式被植物吸收。

事实上人们很早就发现镍是脲酶的必需辅基，脲酶的作用是将尿素水解为 $CO_2$ 和 $NH_4^+$。无镍时，脲酶失活，尿素在植物体内积累、最终对植物造成毒害。但有关镍是否为必需元素的争论集中在是否大部分或所有植物的代谢活动都产生尿素，进而才能证明脲酶及镍元素对植物是必需的。20 世纪 80 年代有关植物代谢途径的研究结果陆续证明，大多数植物确实在代谢过程中产生尿素。如许多豆科植物根瘤的固氮过程中就产生一些含脲基的化合物，而这些含脲基的化合物的进一步代谢则必然产生尿素，而无镍时，尿素不能被及时分解而积累，结果首先造成叶片的尖端和边缘组织坏死，严重时叶片整体坏死而影响植物的正常生长发育。腺嘌呤和鸟嘌呤的降解过程中也产生含脲基的化合物以及尿素，显然所有的植物都存在嘌呤化合物的降解，因此也必需由镍激活的脲酶降解尿素。

## （十四）氯

氯在 1954 年才被确定为植物的必需元素。氯以 $Cl^-$ 的形式被植物吸收，进入植物体内后绝大部分仍以 $Cl^-$ 的形式存在，只有极少量的氯被结合进有机物，其中 4-氯吲哚乙酸是一种天然的生长素类激素。大多数植物对氯的需要量较少，少于 10mg/L；而盐生植物的含氯相对较高，约 70～100 mg/L。

在光合作用中 $Cl^-$ 参加水的光解氧化过程（详见第六章）。叶和根细胞的分裂也需要 $Cl^-$ 的参与。$Cl^-$ 是植物细胞内含量最高的无机阴离子，作为 $K^+$ 等阳离子的电荷平衡成分，在细胞的渗透调节和电

荷平衡等方面起重要作用。如在气孔运动调节过程中，$Cl^-$的进出保卫细胞一方面参与渗透势的调节、同时还对保卫细胞跨膜电位的维持和变化有重要作用。

缺氯时，植株叶片萎蔫、失绿坏死、最后变为褐色；同时根系生长受阻、变粗，根尖变为棒状。

## 四、植物的有益元素和有害元素

### （一）有益元素

有些元素并非是植物的必需元素，但这些元素对植物的生长发育、或对植物生长发育过程中的某些环节有积极的影响，这些元素被称为植物的有益元素(beneficial element)。人们对于有益元素如何影响植物生长发育的生理生化及分子机理还知之甚少，有待于今后的逐步研究。常见的植物有益元素有钠、硅、钴、硒、钒等。

**1. 钠**

许多盐生植物的正常生长发育需要钠盐的供给，如藜科的滨藜(*Atriplex patens*)、碱蓬(*Suaeda glauca*)等植物。盐生植物往往生长在土壤含盐量高、干旱等环境中，这些植物往往通过在液泡中大量储存$Na^+$以调节细胞渗透势，通过降低细胞水势而促进活细胞自环境中吸收水分等。所以有人甚至认为钠是盐生植物生长所必需的"营养"元素。而对于大多数非盐生植物，环境中钠盐过高时对植物生长造成盐胁迫(参见第十九章)。但对于一些生长或培养在低钾环境中的非盐生植物，如果有适量的钠存在，可在一定程度上缓解植物的缺钾症状，但钠并不能取代钾的作用。

**2. 硅**

硅在土壤中含量较为丰富，通常以$SiO_2$形式存在，而植物能够吸收的硅的形态是单硅酸[$Si(OH_2)_4$]。不同植物中的含硅量差别很大，如在禾本科植物中含量很高，特别是水稻茎叶干物质中含有15%～20%的$SiO_2$。在禾本科植物中，硅多集中在表皮细胞内，使细胞壁硅质化，有利于增强这些植物对病虫害的抵御能力和抗倒伏能力。硅对生殖器官的形成有促进作用，如对穗数、小穗数和籽粒增重都是有益的。

**3. 钴**

钴对许多植物的生长发育有重要调节作用。植物一般含有0.05～0.5 mg/L的钴，豆科植物的含钴量较高，禾本科植物含钴量较低。钴是维生素$B_{12}$的成分，也是黄素激酶、葡糖磷酸变位酶、酸性磷酸酶、异柠檬酸脱氢酶、草酰乙酸脱羧酶等的激活剂。

**4. 硒**

大部分耕地土壤的含硒量很低，平均为0.2 mg/kg。硒的价态很多，在土壤中以$Se^{6+}$、$Se^{4+}$、$Se^0$、$Se^{2-}$等价态存在，形成硒盐、亚硒酸盐、元素硒、硒化物及有机态硒。土壤中硒的存在价态决定其对于植物的供给性和在土壤中的移动情况。植物中的含硒量较低，大多数植物新鲜组织中的每千克鲜重含硒量约在0.001～0.01mg之间(如新鲜的水果和蔬菜)，三叶草、苜蓿等草类每千克鲜重的含硒量不超过0.1mg。硒在植物的生长点和种子中的含量可达每千克鲜重1500毫克硒。而少数富含硒的植物组织中的含硒量也可达每千克鲜重上千毫克硒。

虽然硒不是植物的必需元素，但低浓度的硒对一些植物的生长发育有利，而过多的硒则有毒害作用。硒毒害表现为植物生长发育受阻、黄化。硒引起植物毒害的原因可能是硒酸盐干扰了植物同化硫的代谢过程所致。

**5. 钒**

钒不是植物的必需元素，但作物栽培实践表明，给作物施用适量的钒可以促进作物的生长发育，并有增加作物产量或改善作物品质的作用。如喷施硫酸钒可增加甜菜根中蔗糖含量，也可增加玉米

籽粒中蛋白质和淀粉的含量。

**6. 稀土元素**

稀土元素是元素周期表中原子序数由57～71的镧系元素及其化学性质与镧系相近的钪(Sc)和钇(Y)共17种元素的统称。土壤和植物体内普遍含有稀土元素。

低浓度的稀土元素可促进种子萌发和幼苗生长。如用稀土拌种，冬小麦种子萌发率可提高8% ～ 9%。稀土元素对植物扦插生根有特殊的促进作用，同时还可提高植物叶绿素含量和光合速率。稀土元素可促进大豆根系生长，增加结瘤数，提高根瘤的固氮活性等。

### (二) 有害元素

有些元素少量或过量存在时均对植物有不同程度的毒害作用，习惯上将这些元素称为有害元素，如重金属汞、铅、钨、铝等。

汞、铅等对植物有剧毒。钨对豆科植物与根瘤菌的共生固氮过程有抑制作用，因其竞争性地抑制共生体系对钼的吸收，而后者是根瘤菌固氮酶(钼铁蛋白)的成分(严格地讲，钨对豆科植物生长的抑制作用是间接的影响作用)。环境中铝含量高时可抑制植物对铁和钙的吸收，强烈干扰磷代谢，阻碍磷的吸收和向地上部的运转等。铝对植物的毒害的表现症状有：抑制根的生长、根尖和侧根变粗成棕色、地上部生长受阻、叶子呈暗绿色、茎呈紫色等。

## 五、植物的缺素诊断

植物在生长发育过程中缺乏某种必需元素时其生理生化过程受到影响，进而在植物的组织或器官的形态、颜色等方面发生一些可观测到的变化。无论在研究工作的植物材料培养过程中，还是在作物栽培实践中，如果能够及时准确地判断缺素现象，可有效地避免不必要的损失。判断植物生长发育过程中组织或器官的一些形态变化是否由于缺乏某种元素所致，一般应循以下步骤。

### (一) 确定植物组织、器官在形态、颜色等方面发生变化(症状)的原因

首先应区分生理病害、病虫危害和其他环境条件不适而引起的病症。引起植物发生类似于缺乏某种或某些营养元素的症状的原因可能是多方面的，如病毒可引起植株矮化，出现花叶或小叶等症状；植物受到蚜虫侵袭后会出现卷叶现象；干旱或涝灾后会导致植株叶片发黄；等等。这些现象与一些缺素症状非常相似。其次，如能确定是由于缺素导致的生理病害，应根据症状归类分析以确定是由于缺乏何种元素导致的症状。例如，不同元素的缺乏都可能导致叶片失绿，但叶片失绿的现象不同则可能指示出不同元素的缺乏。如果新生叶失绿，可能是缺铁、硫、或锰等元素。其中，若幼叶全部失绿，可能是缺硫；若幼叶呈白色，可能是缺铁；若叶脉绿色而叶肉变黄，则可能是缺锰。如果老叶首先失绿，则可能是由于缺乏氮、镁、锌元素所造成的。具体判断可参考缺素症状检索表(表5-5)和图5-2。表5-5中可以检索的内容是针对植物的一般缺素症状而言。然后，再对缺乏某种或某些元素的原因进行分析，如分析土壤(或培养介质)的理化性质及施肥(或营养液成分)情况等。土壤酸碱度对各种矿质元素的溶解度影响很大，当土壤的pH过高或过低时往往使某些元素呈不溶解状态，使其不能被植物吸收利用。例如磷在强酸性环境中，往往与水溶性的$Fe^{3+}$或$Al^{3+}$形成不溶性的磷酸铁或磷酸铝，以致不能被植物利用。对于栽培作物，可根据过去的施肥及轮作情况来分析土壤中可能缺乏的元素种类。

**表 5-5　部分必需元素缺乏的主要症状检索表**

| 症状 | 元素 |
|---|---|
| 1. 较幼嫩组织先出现病症——不易或难以重复利用的元素 | |
| 　2. 生长点枯死 | |
| 　　3. 叶缺绿 | B |
| 　　3. 叶缺绿，皱缩，坏死；根系发育不良；果实极少或不能形成 | Ca |
| 　2. 生长点不枯死 | |
| 　　3. 叶缺绿 | |
| 　　　4. 叶脉间缺绿以及坏死 | Mn |
| 　　　4. 不坏死 | |
| 　　　　5. 叶淡绿至黄色；茎细小 | S |
| 　　　　5. 叶黄白色 | Fe |
| 　　3. 叶尖变白，叶细，扭曲，易萎蔫 | Cu |
| 1. 较老的组织先出现病症——易重复利用的元素 | |
| 　2. 整个植株生长受抑制 | |
| 　　3. 较老叶片先缺绿 | N |
| 　　3. 叶暗绿色或红紫色 | P |
| 　2. 失绿斑点或条纹以及坏死 | |
| 　　3. 脉间缺绿 | Mg |
| 　　3. 叶缘失绿或整个叶片上有失绿或坏死斑点 | |
| 　　　4. 叶缘失绿以及坏死，有时叶片上也有失绿以及坏死斑点 | K |
| 　　　4. 整个叶片有失绿及坏死斑点或条纹 | Zn |

当然，通过上述方法只能做出初步的判断，而通过对植物体内和土壤营养元素成分的测定，并辅之于加入不同营养元素以观察植物症状是否发生变化的试验，才能最终比较准确地判断植物缺素的种类。

## （二）植物组织及土壤成分的测定

在上述初步判断的基础上，对某种或某些可能缺乏的元素进行植物组织或土壤（或其他介质）样品的测定，可有助于进一步判断是否缺乏某种或某些元素。如植株出现有缺氮病症，可测定植物组织中的含氮量，并与其他正常植株进行比较分析。同时，也可对土壤（或其他介质）中的某种或某些元素含量进行测定分析。应该注意的是，植物体内或土壤（或介质）中即便不缺乏某种元素，也可能出现对应于该种元素的缺素症状。又如，土壤（或其他介质）中并不缺乏某种元素，但由于其他原因可能导致植物不能吸收或利用该元素，则植物依然可能出现该元素的缺素症状。又如，即便是植物能够自环境中摄取足够的硝态氮（$NO_3^-$），但如果植物体内缺乏有机物或还原物质的供应（即植物的整体同化能力降低的情况下），则硝态氮的还原过程就可能受阻而使植株表现缺氮病症。因此，对于植株的缺素症状应进行综合的分析。

## （三）补充营养元素

如能初步确定植株的病症是由于缺乏某种元素而造成的，可通过施肥或在生长介质中补充加入该种元素的方法，以观察植株的恢复情况。如缺素症状消失，则可判断是缺乏该元素。对于大田栽培作物，为避免浪费或失误，可先进行小面积试验，待明确效果明显后再进行大面积施肥处理。

# 第二节　植物对矿质元素的吸收及运输

## 一、根系吸收矿质元素的区域和过程

### （一）根系吸收矿质元素的区域

虽然正常生长的陆生植物除根系以外的组织和器官也能自环境中吸收少量矿质营养元素，但陆生植物的根系是植物吸收矿质营养元素的最主要器官。而根系的哪一或哪些部位是吸收矿质元素的主要区域至今仍是植物生理学家们经常争论的问题。有些人认为根尖是植物吸收矿质元素的主要部位，而另一些人则认为整个根系的表面都能吸收矿质营养元素。有不同的实验证据分别支持不同的观点，但多数人现在一般认为，不同的矿质营养元素的主要根系吸收区域是有所不同的，而且不同植物对同种矿质元素的吸收部位也有所不同。如大麦吸收钙、铁的区域主要是在根尖区域，而玉米的整个根系表面都能够吸收铁。许多植物的整个根系表面都能够吸收钾、硝酸根、铵、磷酸根离子，但玉米吸收钾、硝酸根离子的主要区域是根尖的伸长区。有一些实验证据支持根尖的伸长区和根毛区是根系吸收矿质元素主要部位的观点，这一方面是由于伸长区和根毛区组织迅速生长对营养元素的需求所致，另一方面也可能是由于根尖组织所处的环境中矿质元素的供给较为充足所造成。总之，对于植物根系吸收矿质元素的确切部位应当对具体情况予以具体分析研究。

### （二）根系吸收矿质的过程

植物根系吸收矿质大致经过以下步骤：①土壤溶液中多数以离子形式存在的矿质元素先被吸附在根组织表面；②经质外体或共质体途径进入根组织维管束的木质部导管；③进入木质部导管的矿质元素随木质部汁液在蒸腾拉力和根压的共同作用下上运至植物的地上部分。

**1. 矿质元素被吸附在根组织细胞表面**

根组织细胞经呼吸作用释放 $CO_2$ 和 $H_2O$。$CO_2$ 溶于水生成的 $H_2CO_3$ 在适当的 pH 环境中解离为 $H^+$ 和 $HCO_3^-$ 离子，这些离子同土壤溶液和土壤胶粒上吸附的离子（如 $K^+$、$Cl^-$、$NO_3^-$ 等）进行离子交换，使土壤中的离子被吸附于根组织表面。离子交换按“同荷等价”的原理进行，即阳离子与阳离子交换、阴离子与阴离子交换，而且价数必须相等。除了离子交换的方式外，由于根组织活细胞质膜内侧呈负电状态，因此土壤中的阳离子在静电作用下也可被吸附在根组织表面。

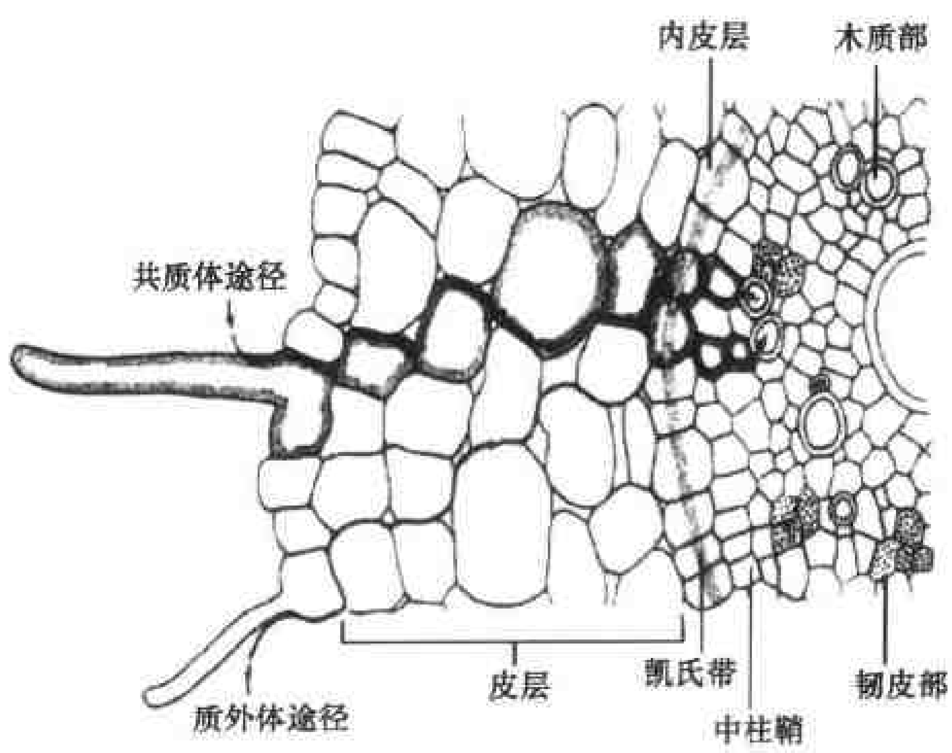



图 5-3　根毛区离子吸收的共质体和质外体途径
(Salisbury & Ross　1992)

**2. 矿质元素在根组织内的质外体和共质体运输途径**

吸附在根组织表面的各种矿质元素（主要是各种无机离子）可以通过根组织的质外体空间或共质体两种途径向木质部导管运输（图5-3）。植物组织中细胞质膜外部的细胞壁部分在组织内构成一连续的结构空间被称为质外体(apoplast)。土壤溶液中的各种矿质元素可顺着电化学势梯度自由扩散进入质外体空间，故有时又将质外体称为自由空间。活组织自由空间的体积大小可通过某种离子的扩散平衡实验

来估算，这个估算值称为相对自由空间(relative free space，RFS)。估算的方法大致为，将被测活组织(如根组织)置于含有某种离子、已知浓度和体积的溶液中，待组织内外离子达到平衡后，测定溶液中该种离子的浓度和进入组织内自由空间的离子总量，并用下式可计算出相对自由空间(relative free space，RFS)：

$$\mathrm{RFS} = \frac{自由空间体积}{根组织总体积} \times 100\% = \frac{进入组织自由空间的溶质数(\mu mol)}{外部平衡溶液溶质浓度(\mu mol/ml) \times 组织总体积(ml)} \times 100\%$$

而在研究工作中比较准确地测定质外体或自由空间体积的方法则是利用放射性标记的物质来进行的。将活组织置于含有用$^3$H标记的水和$^{14}$C标记的山梨糖醇(或甘露糖醇)的混合溶液中(两者的放射性比活及浓度均为已知)，由于水分子能自由出入活细胞，因此利用被测组织中$^3$H标记的水的数量可以计算出组织的总体积；而$^{14}$C标记的山梨糖醇(或甘露糖醇)则只能扩散进入质外体(自由空间)，利用被测组织中$^{14}$C标记的山梨糖醇(或甘露糖醇)的数量可计算出质外体空间的体积。

据测定，大部分植物活组织的相对自由空间在5%～20%之间。

各种溶质可通过扩散作用进入根部自由空间，并能较为容易地穿过根组织的外皮层组织。但内皮层细胞上有凯氏带形成的不允许溶质和水分通过的屏障，因此溶质和水通过质外体的运输仅限于根的内皮层以外。溶质和水分子到达内皮层后只有转入共质体才能进入维管束组织。不过根的幼嫩部分，其内皮层细胞尚未形成凯氏带前，溶质和水分可经过质外体到达导管。另外在内皮层中有个别细胞(通道细胞)的胞壁不加厚，也可作为溶质和水分的通道。

溶质通过跨膜运转进入原生质(参见第四章)，并通过活细胞间的胞间连丝连续不断地从一个活细胞运输至另一活细胞的过程称为共质体运输。自根表面开始一些溶质就可以直接被根的表皮细胞或外皮层细胞吸收进入细胞内。在细胞内离子可以通过内质网及胞间连丝从表皮细胞进入皮层细胞、跨过内皮层并进入木质部薄壁细胞，然后再从木质部薄壁细胞释放到导管中。溶质自木质部薄壁细胞释放至导管的过程可以是被动的，也可以是主动的，释放过程对溶质的种类具有选择性。在木质部薄壁细胞质膜存在的质子ATP酶在薄壁细胞向导管分泌离子的过程中有重要作用。溶质进入导管后随蒸腾流被运至地上部分。

## 二、植物吸收矿质元素的特点

### (一) 根系吸收矿质营养与吸收水分的关系

只有溶于水的矿质营养元素才有可能被植物吸收，而盐分子也必须在水溶液中解离为离子后才能被植物吸收。虽然矿质营养元素在被吸收的过程中的某些环节可经质外体进行扩散运输，但最终矿质元素必须跨膜进入活细胞的原生质才能保证植物的生长发育。水分子和各种矿质元素在跨膜进入活细胞时是分别通过不同的跨膜运转蛋白而进行的，前者须通过膜上的水孔蛋白、后者则分别通过相应的离子跨膜运转蛋白(离子通道、离子载体、离子泵等；见第四章)而进入活细胞。因此，植物对水分和矿质的吸收是既相互联系、又相对独立的。所谓两者相关表现为矿质元素须溶于水中才能被根系吸收，而且活细胞对矿质元素的吸收导致了细胞水势的降低，从而又促进了植物细胞吸收水分。所谓两者相互独立则是指两者的吸收并不一定成比例以及吸收机理也不同，水分吸收的动力主要来自蒸腾拉力，而矿质元素的吸收则须消耗代谢能量。此外，两者的运输去向也不尽相同，水分主要被运输至叶片，而矿质元素则主要被运输至当时的生长中心。

### (二) 根系对离子吸收具有选择性

植物对各种矿质元素的吸收表现出明显的选择性。所谓植物对无机离子的选择吸收是指植物对

同一溶液中不同离子吸收的比例不同的现象，如给作物施用 $NaNO_3$，作物对 $NO_3^-$ 的吸收大于对 $Na^+$ 的吸收；又如，同是一价阳离子的 $K^+$ 和 $Na^+$，非盐生植物（甜土植物）对 $K^+$ 的吸收高于对 $Na^+$ 的吸收，但盐生植物则可能对 $Na^+$ 的吸收高于对 $K^+$ 的吸收。由于植物细胞内总的正负电荷数须维持相对平衡，因此当植物吸收某种离子的同时伴随着带同种电荷及相同电荷数的离子的排出，或者伴随着带相反电荷及相同电荷数的离子的吸收。如在植物选择性吸收 $NO_3^-$ 时，伴随着 $H^+$ 的吸收或 $HCO_3^-$、$Cl^-$ 等阴离子的排出。又如当植物选择性吸收 $K^+$ 时，伴随着 $H^+$ 的排出或 $Cl^-$ 等阴离子的同时吸收。以在土壤中施用 $NaNO_3$ 为例，植物在选择性吸收 $NO_3^-$ 时大多伴随着 $H^+$ 的吸收，环境中 $H^+$ 的减少使 $HO^-$ 的相对浓度增加从而导致土壤溶液的 pH 升高。因此，将这类由于植物对离子的选择性吸收而使环境 pH 升高的盐类称为生理碱性盐（physiologically alkaline salt），硝酸盐类（硝酸铵例外）一般均属生理碱性盐。相反，如 $(NH_4)_2SO_4$ 等硫酸盐类，因植物对其阳离子（$NH_4^+$）的吸收大于对阴离子（$SO_4^{2-}$）的吸收，同时伴随着根细胞向外释放 $H^+$ 以达到电荷平衡，因此在环境中积累 $SO_4^{2-}$ 的同时也积累了 $H^+$，使得环境 pH 下降，故称这种盐类为生理酸性盐（physiologically acid salt）。而对于生理中性盐（physiologically neutral salt），植物根系吸收其阴、阳离子的速率和数量很相近，结果并不改变环境的 pH，如 $NH_4NO_3$ 即属此类盐。显然，如果在土壤中长期施用某种生理酸性盐或某种生理碱性盐化学肥料，就会导致土壤酸碱度的改变，从而破坏土壤结构，所以施化肥应注意肥料类型的合理搭配。

### （三）单盐毒害

将植物培养在某一单盐溶液中（即溶液中只含有单一盐类），不久植株即呈现不正常状态甚至枯死，这种现象称为单盐毒害（toxicity of single salt）。无论该种单盐是必需营养元素或非必需营养元素都可导致植物受到单盐毒害，而且在溶液浓度很低时植物就会受害。例如将海生植物置于与海水盐浓度相同的 NaCl 溶液中，植物会很快死亡。许多陆生植物的根系浸入钙、镁、钾、钠、铁等任何一种元素的单一盐类溶液中，根系都会迅速停止生长，且分生区的细胞壁黏液化、细胞破坏，最终导致植物死亡。

若在单盐溶液中加入少量其他盐类，单盐毒害现象就会消除。这种不同离子间能够相互消除植物遭受单盐毒害的现象，称离子拮抗（ion antagonism）。所以，植物只有在含有适当比例的多盐溶液中才能正常生长发育，这种溶液称为平衡溶液（balanced solution）。表 5-3 和表 5-4 所列的几种植物营养液都是平衡溶液。土壤溶液一般含有多种盐类，因此对于陆生植物而言是平衡溶液，但并非理想的平衡溶液，在作物生产中施用各种化肥的目的就是使土壤中各种矿质元素达到平衡，以利于植物的正常生长发育。

## 三、影响根系吸收矿质元素的因素

植物吸收矿质元素的过程受各种环境条件的影响，其中以土壤温度、土壤氧气状况、土壤酸碱度和土壤溶液中各种溶质浓度的影响最为显著。

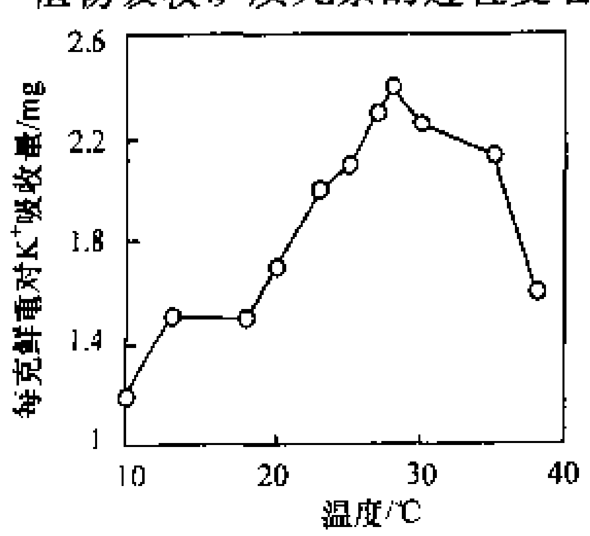


图 5-4　温度对小麦幼苗吸收钾的影响

### （一）土壤温度

在一定范围内，根系吸收矿质元素的速度随土壤温度的升高而加快，但当超过一定温度时，吸收速度反而下降（图 5-4）。这是由于土温一方面直接影响溶质的扩散速度，温度较高时溶质在溶液中的扩散速度较快。另一方面，土壤温度间接地通过影响根系的呼吸作用（参见第八章有关温度影响呼吸作用的内容）而影响根组织对矿质元素的主动吸收。温度也影响各种酶

的活性，在适宜的温度下，根组织的各种代谢活动加强，需要矿质元素的量增加，根组织吸收溶质的量也相应增多。温度也通过影响原生质胶体状况而影响根系对矿质元素的吸收，低温下原生质胶体黏性增加，透性降低，吸收减少；而在适宜温度下原生质黏性降低，透性增加，对离子的吸收加快。大气温度的高低或变化也影响植物对矿质的吸收。一方面大气温度通过影响土壤温度而影响根系的生理活动，另一方面大气温度直接影响植物地上部分的生理状况面间接影响根系对矿质的吸收（如蒸腾强度、地上部分的生长状况等）。

## （二）土壤通气状况

土壤通气状况直接影响到根系的呼吸作用，进而影响根组织的生理状况及对矿质的吸收。通气良好时土壤含氧量较高，根系的呼吸代谢较为旺盛，根组织吸收矿质元素的速度较快。当然，土壤含氧量过高也不利于根系的正常生理代谢活动，进而会对矿质吸收产生负面影响。利用离体根组织的试验结果表明，水稻在土壤含氧量在3%左右时吸收钾的速度最快，而番茄则需要土壤含氧量在5%～10%之间时才出现吸收高峰。土壤处于缺氧状况时，根系的生理代谢活动受到抑制，植物吸收矿质的速度明显减缓。在多数情况下，土壤处于较为缺氧的状态，因此各种改善土壤通气状况的措施（如增施有机肥料以改善土壤结构、加强中耕松土等）均能增强植物根系对矿质元素的吸收。改善土壤通气状况除可有效增加土壤含氧量外，还有减少土壤中 $CO_2$ 含量的作用。土壤中 $CO_2$ 含量过高导致根系呼吸作用受抑，进而影响根系对矿质的吸收。

## （三）土壤溶液中各种矿质元素的浓度

在土壤中各种矿质元素的浓度较低时，根系吸收矿质元素的速度随着矿质元素浓度的增加而增加。但当土壤中矿质元素含量达到一定浓度时，再增加这些矿质元素的浓度也不会提高根系对矿质的吸收速度。这一方面是由于根系吸收矿质的速率可能已经达到饱和，另一方面矿质元素（溶质）浓度过高会对根组织产生渗透胁迫，严重时会引起根组织乃至整个植株失水而出现所谓“烧苗”现象。因此，过量的土壤施肥或叶面喷施化肥都可能会造成对植物的伤害。

## （四）土壤酸碱度

土壤酸碱度（pH）对矿质元素吸收的影响因离子性质不同面异。在一定的 pH 范围内，一般阳离子的吸收速率随土壤 pH 升高而加速，而阴离子的吸收速率则随土壤 pH 增高而下降（图 5-5）。

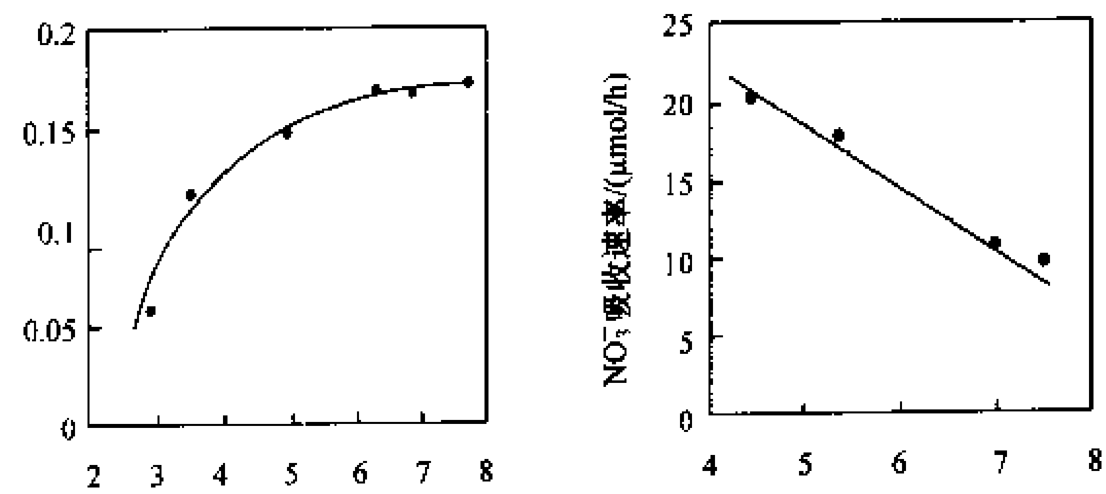



图 5-5　pH 对矿质元素吸收的影响

左：对燕麦吸收 $K^+$ 的影响；右：对小麦吸收 $NO_3^-$ 的影响。

土壤 pH 对阴阳离子吸收影响不同的原因与组成细胞质的蛋白质为两性电解质有关。在酸性土壤环境中，根组织活细胞膜及胞质内构成蛋白质的氨基酸的氨基处于带正电状态，根细胞易吸收外界

溶液中的阴离子；而在碱性环境中，氨基酸的羧基多发生解离而处于带负电状态，根细胞易吸收外部的阳离子(图 5-6)。

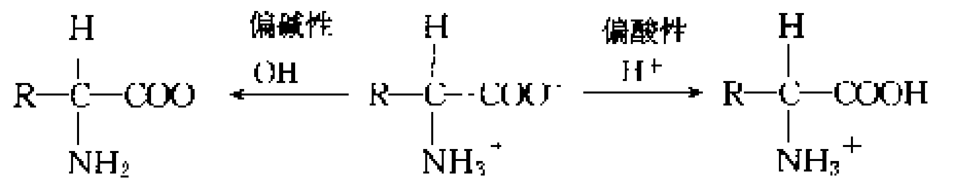



图 5-6 不同 pH 条件下氨基酸带电情况示意图

土壤溶液 pH 对植物营养的间接影响比直接影响大得多，这是由于 pH 可显著影响土壤中各种矿质元素的可利用性或活度(availability)。当土壤溶液偏碱性时，Fe、Ca、Mg、Cu、Zn 等元素易形成难溶性化合物，使这些元素的有效浓度降低。而在偏酸性环境中，$PO_4^{3-}$、$K^+$、$Ca^{2+}$、$Mg^{2+}$ 等溶解性增加，其有效浓度增加有利于植物的吸收利用，但同时又不利于这些元素在土壤中的持久存在(易流失)，因此在酸性红壤中常缺乏 $PO_4^{3-}$、$K^+$ 等营养元素。当土壤过于偏酸性时，铝、铁、锰等元素的溶解度增大，当土壤中这些元素的含量超过一定浓度时可使植物中毒。

总之，植物正常吸收矿质营养元素的过程需要在适合的土壤 pH 条件下进行，而不同植物对土壤 pH 的要求也不尽相同。如茶树、马铃薯、烟草等喜偏酸的土壤环境，而甘蔗、甜菜等则喜偏碱的土壤环境。对多数植物而言，最适生长的土壤酸碱度约在 pH 6～7 之间。

## 四、植物地上部分对矿质元素的吸收

植物除了根系以外，地上部分(茎、叶等器官)也具有一定的吸收矿质元素的功能。在作物栽培实践中，有时将一些速效性肥料直接喷施于植物地上部分以供植物吸收，这种施肥方法称为根外施肥。

用含有矿质营养元素的溶液喷施植物地上部分(主要是叶片)后，营养元素可通过叶片气孔或茎表面的皮孔进入植物体内，也可通过植株体表的角质层进入植物体内。水溶液虽然难以穿透植物体表或叶片表层的角质层(角质层主要由一些脂类化合物构成)，但角质层结构常存在呈细微孔道的裂缝可允许溶液通过。含有矿质营养元素的溶液经角质层孔道到达表皮细胞外侧壁后，再经胞壁中的外连丝结构到达表皮细胞的质膜，进而被转运到细胞内部，最后到达茎、叶中的韧皮部。外连丝是外部营养物质进入植物体内的重要通道，它遍布于表皮细胞、保卫细胞和副卫细胞的外围。

根外施肥时营养物质进入植物体内的多少与多种因素有关。如幼嫩叶片较衰老叶片直接吸收利用营养元素的速率高、数量大，这是由于二者的表层结构差异和生理活性不同的缘故。大气温度对营养元素进入叶片有直接影响，如在 30℃、20℃和 10℃时，叶片吸收$^{32}P$ 的相对速率分别为 100、71 和 53。由于植物茎、叶只能吸收溶液中的营养物质，所以溶液在植物体表留存的时间越长，可能被吸收的营养元素的量就越多。因此，凡影响液体蒸发的外界环境因素(如光照、风速、气温、大气湿度等)都会影响茎表、叶片对营养元素的吸收。所以在生产上，根外施肥作业多选择在凉爽、无风、相对湿度较高的期间(例如阴天、傍晚)进行。

根外施肥无疑具有肥料用量省、肥效快等特点。而对于作物生长的特殊阶段或在一些特殊环境条件下，根外施肥更具有其不可替代的作用。如在作物生长后期根系活力降低、吸收矿质营养能力衰退时，根外施肥对于提高作物产量有显著作用；又如在土壤缺少有效水分、土壤施肥难以发挥效益时，或因某些矿质元素在土壤施肥效果差时(如铁在碱性土壤中有效性很低、钼在酸性土壤中被固定等)，利用根外追肥可以收到明显效果。常用于作物叶面喷施的肥料有尿素、磷酸二氢钾及微量元素。在禾谷类作物生长后期喷施氮肥，可有效地增加种子中的蛋白质含量。

当然，对于植株体表角质层较厚的植物(如柑橘类)来说，根外施肥的效果较差。在实施叶片喷施时，切忌喷施浓度过高，以免造成对叶片的直接伤害。

## 五、矿质元素在体内的运输和利用

植物根系吸收的矿质营养元素只有少部分被根的生长发育和代谢活动所利用，其余大部分经木质部被运送至植物的地上部分。

### （一）植物体内矿质元素的运输形式

根系吸收的氮素多数是硝酸根离子（$NO_3^-$）的形式，其中一部分在根部被还原并用于各种氨基酸（如天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、谷氨酰胺，以及少量丙氨酸、缬氨酸和蛋氨酸）及含氮有机化合物的合成，然后以氨基酸或其他有机物的形式随蒸腾流被运往地上部。也有一部分氮素以 $NO_3^-$ 的形式直接被运送至叶片后再被还原利用（参见本章第三节中"氮的同化"）。根系吸收的磷主要以磷酸根离子的形式向上运输，也有少量磷先被合成磷脂酰胆碱和 ATP、ADP、AMP、6-磷酸葡萄糖、6-磷酸果糖等有机化合物后再运往地上部。钾、钙、镁、铁、硫等元素则分别以 $K^+$、$Ca^{2+}$、$Mg^{2+}$、$Fe^{2+}$、$SO_4^{2-}$ 等相应的离子形式运往地上部。

### （二）矿质元素运输途径

矿质元素被根系吸收进入木质部导管后，随蒸腾流沿木质部向上运输，这是矿质元素在植物体内纵向长距离运输的主要途径，业已被许多研究所证明。在矿质元素沿木质部上运的同时，也存在有部分矿质元素发生横向运输至韧皮部的现象。当然，在植物体内也存在矿质元素经韧皮部自地上部分（如叶片）向下运输的现象，特别是在植物的特殊生长发育阶段，如多年生植物在秋冬季叶片脱落前，叶片中的矿质元素大量向根部和茎秆转移。

### （三）矿质元素的利用

被根系吸收并经木质部运输至植物各器官和组织（主要是生长部位或代谢活动较为旺盛的部位）的矿质元素，其中一部分与体内的同化物合成有机物质，如氮参与合成氨基酸、蛋白质、核酸、磷脂、叶绿素等，磷参与合成核苷酸、核酸、磷脂等，硫参与含硫氨基酸、蛋白质、辅酶 A 等的合成；另一部分不参与有机化合物合成的矿质元素，有的作为酶的活化剂，如 $Mg^{2+}$、$Mn^{2+}$、$Zn^{2+}$ 等，有的作为渗透物质调节植物细胞的渗透势及水分的吸收，如 $K^+$、$Cl^-$ 等。

被植物吸收利用的矿质元素在植物生长发育的某些阶段也可被再行运输到其他部位被重复利用。不同元素被重复利用的情况不尽相同，氮、磷、钾、镁等易被多次重复利用，铜、锌则可部分被重复利用，硫、锰、钼较难被重复利用，而钙、铁则几乎不能被重复利用。氮、磷、钾可多次参与重复利用，有的从衰老器官转到幼嫩器官（如从老叶转到上部幼叶芽）；有的从衰老叶片转入休眠芽或根茎中，以供来年再被利用；有的从叶、茎、根转入种子中。

# 第三节　植物对氮、硫、磷的同化

## 一、氮的同化

### （一）植物的氮源

空气中含有近 80%的氮气（$N_2$），但植物却无法直接利用这些分子态氮。只有某些微生物（包括与高等植物共生的固氮微生物）才能直接同化利用分子态氮以合成含氮有机化合物。对于大多数陆生植物而言，其所利用的氮源主要来自土壤。

土壤中的有机含氮化合物主要来源于动物、植物和微生物躯体腐烂分解后的产物，但这些含氮化合物大多是不溶性的，通常不能直接为植物所利用，植物只能吸收其中的氨基酸、酰胺和尿素等水溶性的有机氮化物。尿素虽是植物良好的氮源，但由于它易被分解为 $NH_3$ 和 $CO_2$，所以施入田间的尿素，也只有一部分是以尿素分子的形式被植物吸收。

植物的氮源主要是无机氮化物，而无机氮化物中又以铵盐和硝酸盐为主。植物可直接利用自土壤中吸收的铵态氮（$NH_4^+$）合成氨基酸，而植物吸收的硝态氮（$NO_3^-$）则必须经过还原形成铵态氮后才能被利用。

## （二）硝酸盐的还原

大多数植物虽能吸收 $NH_4^+$，但在一般的土壤条件下，$NO_3^-$ 是植物吸收的主要形式。$NO_3^-$ 进入细胞后被硝酸还原酶和亚硝酸还原酶还原成铵。在 $NO_3^-$ 被还原的过程中，每形成一分子 $NH_4^+$ 要求供给 8 个电子。硝酸盐的还原（nitrate reduction）过程可简单地表示为

$$\underset{NO_3^-}{(+5)} \xrightarrow[\text{硝酸还原酶}]{+2e} \underset{NO_2^-}{(+3)} \xrightarrow[\text{亚硝酸还原酶}]{+6e^-} \underset{NH_4^+}{(-3)}$$

硝酸还原酶（nitrate reductase，NR）催化硝酸盐还原为亚硝酸盐，反应式如下：

$$NO_3^- + NAD(P)H + H^+ \xrightarrow{NR} NO_2^- + NAD(P)^+ + H_2O$$

硝酸还原酶是一种可溶性的钼黄素蛋白（molybdoflavoprotein），它由黄素腺嘌呤二核苷酸（FAD）、血红素（亚铁原卟啉）和钼复合蛋白（Mo-Co）组成，单体分子质量为 100 kDa。高等植物中的硝酸还原酶结构为同源二聚体（homodimer），分子质量为 200 kDa。图 5-7 示硝酸还原酶的大致结构。大部分硝酸还原酶在还原硝酸盐时的供氢体是 NADH，而在非绿色组织（如根组织）中的硝酸还原酶则可以 NADH 或 NADPH 为氢供体。

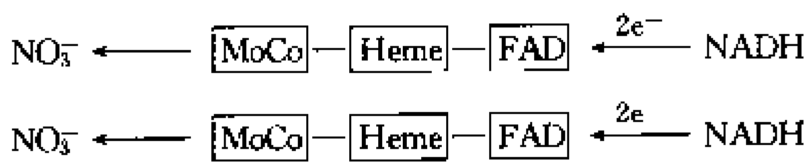



图 5-7　硝酸还原酶的二聚体结构模型及电子传递顺序示意图

硝酸还原酶是一种底物诱导酶（induced enzyme）。我国科学家吴相钰、汤佩松在 1957 年发现，水稻幼苗若培养在含硝酸盐的溶液中就会诱导幼苗合成硝酸还原酶，如培养液中不含硝酸盐则无硝酸还原酶合成。这也是国内外最早的有关高等植物体内存在诱导酶的报道。

亚硝酸还原酶（nitrite reductase，NiR）催化亚硝酸盐还原为铵的过程，反应式为

$$NO_2^- + 6Fd_{red} + 6e^- + 8H^+ \xrightarrow{NiR} NH_4^+ + 6Fd_{ox} + 2H_2O$$

亚硝酸还原酶为单条肽链，分子质量为 63 kDa。其辅基包括一个血红素和一个 4Fe-4S 簇。图 5-8示亚硝酸还原酶所催化的大致反应过程。亚硝酸还原酶的催化反应以铁氧还蛋白为电子供体，6 个电子依次由亚硝酸还原酶的 4Fe-4S 簇和血红素被转移到底物亚硝酸，使后者被还原为铵离子。亚

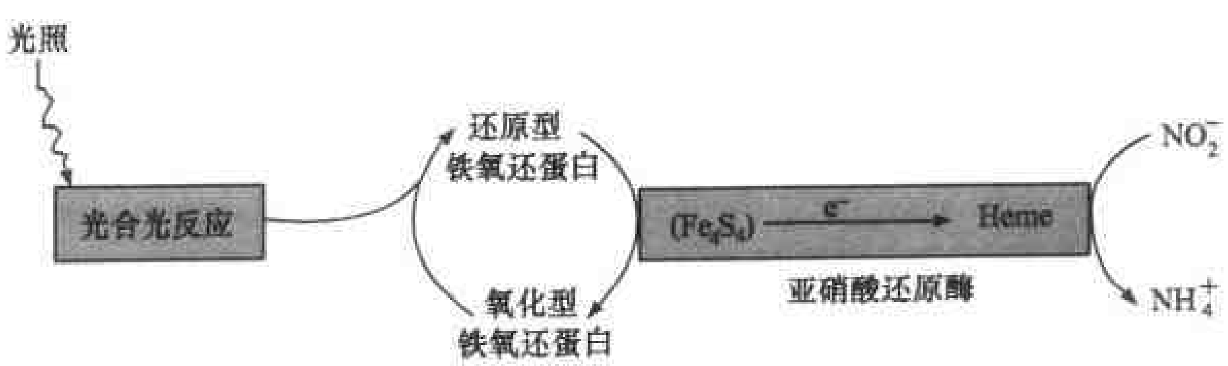



图 5-8　亚硝酸还原酶催化的反应过程示意图（Taiz & Zeiger　1998）

硝酸还原酶受光照和硝酸根的诱导而合成。亚硝酸是活性很强、对植物有较强毒害作用的物质，但植物体内的亚硝酸还原酶的数量大、活性高。因此在正常条件下，植物体内的亚硝酸盐迅速被还原，很少在植物体内积累。

在植物的根细胞和叶肉细胞中都存在还原硝酸根的酶系，因此该过程既可在根组织中进行、也可在叶组织中进行。至于硝酸根在根和叶中还原各占的比例则随不同植物及不同环境条件而有所不同。当植物吸收较少量的硝酸根时，大部分硝酸根在根组织中被还原；而当植物吸收大量硝酸根时，则大部分被转运至叶片中被还原。通常在光照条件下、土壤环境中硝酸盐供应充足时，绿色组织（如叶片）中硝酸盐的还原比非绿色组织（如根组织）中更为活跃，这可能是由于这一过程需大量消耗还原态氢供体的缘故，而在光照条件下绿色组织内的还原类物质浓度较高。另外，一般温带植物大多利用其根系还原硝酸根，而热带和亚热带植物则更多利用其绿色组织还原硝酸根。硝酸根在叶组织和根组织中的还原过程分别见图 5-9 和图 5-10。

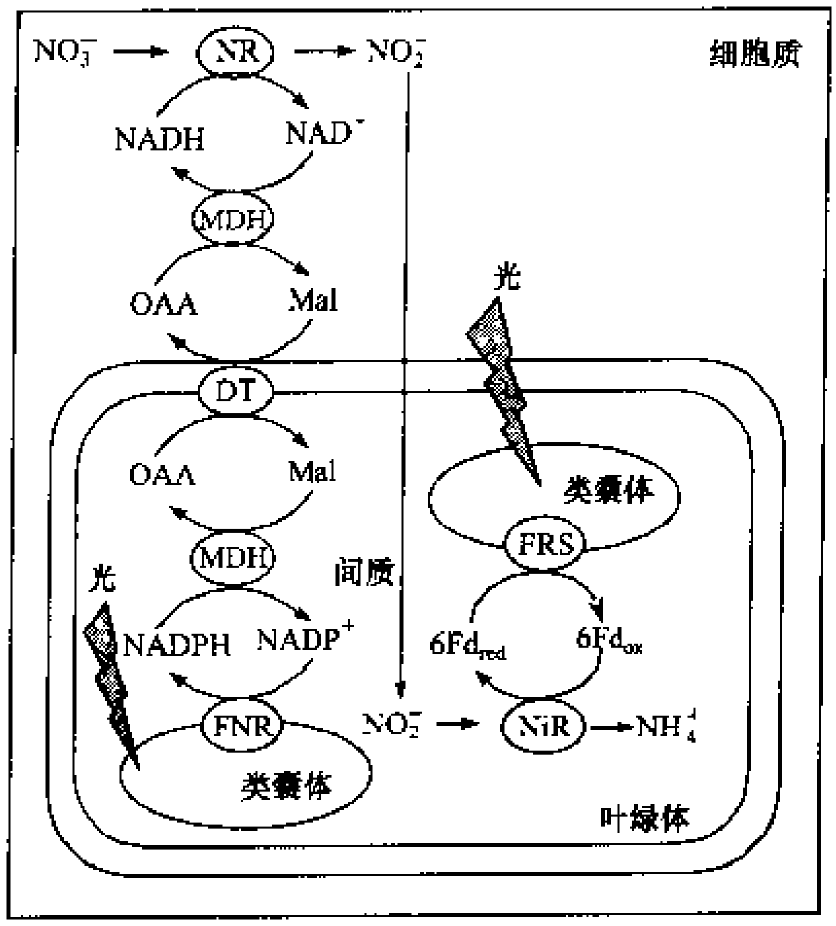



图 5-9 硝酸根离子在叶肉细胞中被还原成铵离子的过程

DT：双羧酸运转器；Fd：铁氧还蛋白；FNR：Fd-NADP 还原酶；MDH：苹果酸脱氢酶；FRS：Fd 还原系统。

在叶片的叶肉细胞中，硝酸根被还原成亚硝酸根的过程是在细胞质中进行的，然后亚硝酸根被运至叶绿体内被进一步还原为铵（图5-9）。当硝酸盐进入叶肉细胞后，细胞质中的硝酸还原酶利用 NADH 作为供氢体将硝酸还原为亚硝酸，而生成 NADH 时的氢供体为苹果酸，是经苹果酸脱氢酶催化将 $NAD^+$ 还原生成的。$NO_3^-$ 还原形成 $NO_2^-$ 后被运到叶绿体，叶绿体内存在的 NiR 利用光合反应生成的还原型 Fd 作为电子供体将 $NO_2^-$ 还原为 $NH_4^+$。

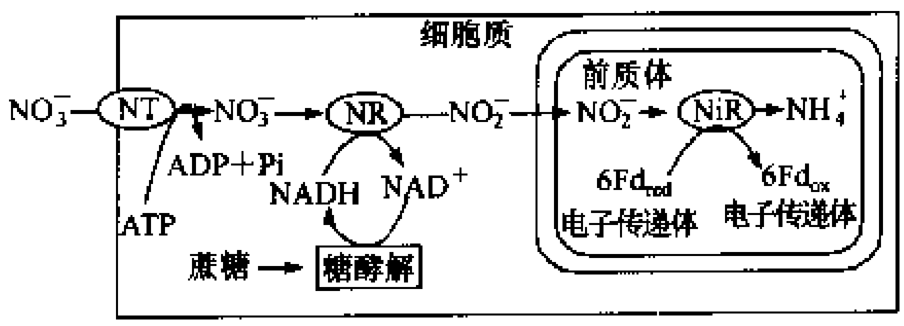



图 5-10 硝酸根离子在根细胞中被还原成铵离子的过程

NT：硝酸运转器；NR：硝酸还原酶；NiR：亚硝酸还原酶。

硝酸盐在根中的还原与叶中基本相同（图 5-10），即硝酸盐通过硝酸运转器进入细胞质，被 NR 还原为 $NO_2^-$，但电子供体 NADH（或 NADPH）是根细胞的呼吸作用产物。形成的 $NO_2^-$ 被运至前质体被 NiR 还原为 $NH_4^+$。

## （三）氨的同化

植物从土壤中直接吸收或由硝酸盐还原形成的铵在植物体内会被迅速用于氨基酸或酰胺的合成，而铵或氨态氮的积累会对植物细胞造成毒害。氨的同化在根细胞和叶细胞中都可进行。氨的同化最初主要是通过谷氨酸合成酶循环进行的（图 5-11），在此循环中的两种重要的酶分别是谷氨酰胺合成酶（glutamine synthetase，GS）和谷氨酸合酶（glutamate synthase，GOGAT）。

谷氨酰胺合成酶催化下列反应：

$$\text{L-谷氨酸} + ATP + NH_3 \xrightarrow[Mg^{2+}]{GS} \text{L-谷氨酰胺} + ADP + Pi$$

GS 由 8 个近乎相同的亚基构成，总分子质量约为 350 kDa。除 $Mg^{2+}$ 外，二价的 $Mn^{2+}$ 或 $Co^{2+}$ 均

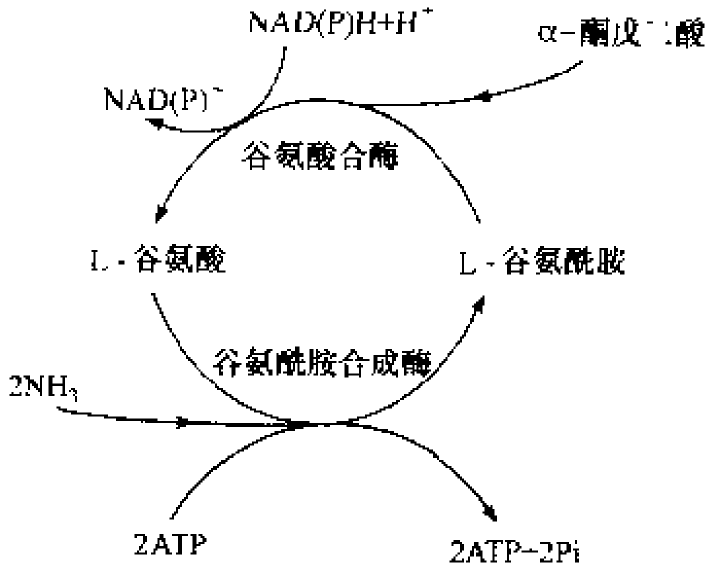



图 5-11 谷氨酸合成酶循环

可作为 GS 的辅基。GS 普遍存在于各种植物组织中，其对氨有很高的亲和力，其 $K_m$ 为 $10^{-5}$～$10^{-4}$ mol/L，因此能迅速将植物体内的氨同化。

谷氨酸合酶有两种形式，分别是以 NAD(P)H 为电子供体的 NAD(P)H-GOGAT 和以还原态 Fd 为电子供体的 Fd-GOGAT。两种形式的 GOGAT 均可催化如下反应：

$$\text{L-谷氨酰胺} + \alpha\text{-酮戊二酸} + [\text{NAD(P)H 或 } Fd_{red}] \xrightarrow{\text{GOGAT}} \text{2L-谷氨酸} + [\text{NAD(P)}^+]\text{或 } Fd_{ox}$$

NAD (P) H-GOGAT 在微生物和植物中广泛存在，而 Fd GOGAT 几乎存在于所有具有光合作用的生物体中。被子植物的组织都有较高的 GOGAT 活力，且种子、根及叶片等组织中两种 GOGAT 共存。一般叶片中的酶活力较根组织中高，其中 Fd-GOGAT 活力又比 NAD (P) H-GOGAT 活力高(种子中例外)。

此外，还有谷氨酸脱氢酶(glutamate dehydrogenase, GDH)也参与氨的同化过程，GDH 催化下列反应：

$$\alpha\text{-酮戊二酸} + NH_3 + \text{NAD(P)H} + H^+ \underset{}{\overset{\text{GDH}}{\rightleftharpoons}} \text{L-谷氨酸} + \text{NAD(P)}^+ + H_2O$$

谷氨酸脱氢酸在植物同化氨的过程中不是十分重要，由于 GDH 对 $NH_3$ 的亲和力很低，其 $K_m$ 值在 $10^{-3}$ mol/L 的数量级(即毫摩尔水平)，但 GDH 在谷氨酸的降解中有重要作用。

三种酶在细胞中的定位有所不同，在绿色组织中，GOGAT 存在于叶绿体内，GS 在叶绿体和细胞质中都有存在。在非绿色组织特别是根组织中，GS 和 GOGAT 定位于质体。以 NADH 为电子供体的 GDH 存在于线粒体中，而以 NADPH 为电子供体的 GDH 则存在于叶绿体中。

当氨被同化形成谷氨酸和谷氨酰胺后，通过氨基转移过程可合成其他氨基酸，催化此类反应的酶称为氨基转移酶(aminotransferase)。例如，天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AAT)催化以下反应：

$$\text{谷氨酸} + \text{草酰乙酸} \xrightarrow{\text{AAT}} \text{天冬氨酸} + \alpha\text{-酮戊二酸}$$

所有氨基转移酶催化的反应过程均以磷酸吡哆醛(维生素 $B_6$)为辅基。氨基转移酶广泛存在于各种组织细胞的细胞质、叶绿体、线粒体、乙醛酸循环体、过氧化物酶体中。存在于叶绿体中的氨基转移酶的作用尤为重要，因为光合作用碳代谢过程中的许多中间产物都可与氨基转移过程相配合而大量合成各种氨基酸。

另外，还应特别提到的是天冬酰胺在氮同化以及氮代谢与碳代谢的协调方面的重要作用。天冬酰胺是第一个被确认的酰胺类物质，其在活细胞中具有较高的稳定性和高的氮碳比(天冬酰胺的氮碳比为 2N∶4C；而谷氨酸和谷氨酰胺的氮碳比则分别为 1N∶5C 和 2N∶5C)的特点使其在氮的转运和贮藏方面有重要作用。天冬酰胺的合成由天冬酰胺合成酶(asparagine synthetase, AS)所催化，在 AS 的催化作用下，谷氨酰胺的氨基被转移至天冬氨酸而生成谷氨酸和天冬酰胺：

$$\text{谷氨酰胺} + \text{天冬氨酸} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{AS}} \text{谷氨酸} + \text{天冬酰胺} + \text{AMP} + PP_i$$

天冬酰胺合成酶存在于根、叶、根瘤组织细胞的细胞质中，是由两个相同亚基构成的、分子质量为 160 kDa 的酶蛋白。

## (四) 生物固氮

大气中的分子氮被氧化形成氮氧化物或被还原形成氨的过程统称为固氮作用(nitrogen fixa-

tion)。人为地在高温、高压下将分子氮还原成氨的过程被称为工业固氮，而自然界也存在多种自然固氮过程。自然固氮过程所固定的分子氮的总量远大于人为的工业固氮所固定的总氮量。自然固氮总量的10%左右是在闪电过程的极端条件下完成的，而其余约90%则主要是通过生活在海洋、湖泊、土壤等环境中的微生物完成的。微生物或其他生物将大气中的分子态氮同化为含氮化合物的过程称为生物固氮(biological nitrogen fixation)。由于工业固氮过程(合成氨过程)必须在高温、高压条件下完成，需消耗大量能源，而且也严重污染环境，所以无限制地发展工业固氮对生态保护和农业可持续发展有明显的不利影响。而生物固氮是自然过程，既不消耗不可再生能源，也不对环境造成污染，如能充分有效地利用生物固氮为作物生产服务，显然具有十分重大的意义。

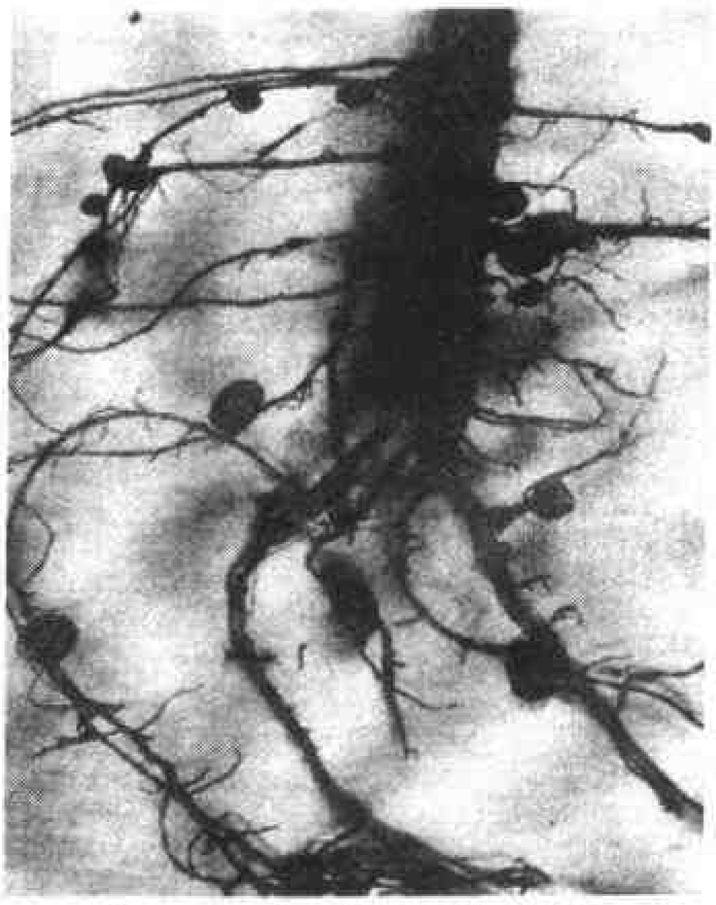


图5-12 大豆根部的结瘤情况
(Taiz & Zeiger 1998)

生物固氮主要是由两类原核微生物来完成的。一类是自生固氮微生物，包括多种细菌和蓝绿藻等，大部分固氮微生物属于此类。另一类是与作为宿主的植物共生的微生物，如与豆科植物共生的根瘤菌、与非豆科植物共生的放线菌、与水生蕨类红萍(亦称满江红)共生的蓝藻(鱼腥藻)等，这类微生物仅占固氮微生物的一小部分。其中以根瘤菌与豆科植物的共生固氮对作物生产最为重要。

**1. 豆科植物根瘤的形成**

与豆科植物共生的根瘤菌的固氮作用是在被称为根瘤(nodule)的特殊结构中进行的(图5-12)。豆科植物根部根瘤的形成是植物与根瘤菌互作的复杂过程(图5-13)。在土壤环境中缺乏可利用氮源时，豆科植物根系分泌类黄酮物质，此类物质一方面具有使根瘤菌朝植物根系发生向化性运动的作用，同时类黄酮物质诱导根瘤菌合成结瘤因子(Nod factor,NF)。当根瘤菌与豆科植物根毛发生接触后(图5-13A)，根瘤菌释放结瘤因子，后者可引起根毛发生变形及弯曲。根瘤菌作用于寄主植物根毛细胞引起后者发生一系列变化的信号转导过程现在还不十分清楚，但目前至少已经知道钙离子在此过程中起着重要的信号传递作用。结瘤因子的基本骨架结构为3～6个乙酰氨基葡萄糖形成的寡聚糖，其一端连有几丁质，另一端连有16～18碳的脂肪酸链(结瘤因子化学结构的英文名称为lipochitin oligosaccharide)。结瘤因子激活豆科植物根产生凝集素(一类糖蛋白)，后者在寄主植物识别根瘤菌的种类过程中发挥作用。随着寄主植物根毛在结瘤因子的作用下发生弯曲，根瘤菌在根毛弯曲形成的空间内聚集(图5-13B)。邻近根瘤菌聚集处的根毛细胞壁发生局部降解使根瘤菌与根毛细胞质膜外表面接触，随着根毛细胞内膜囊泡的大量形成并与质膜融合，形成了由质膜包被向内延伸的管状结构，管状结构内有大量根瘤菌繁殖(图

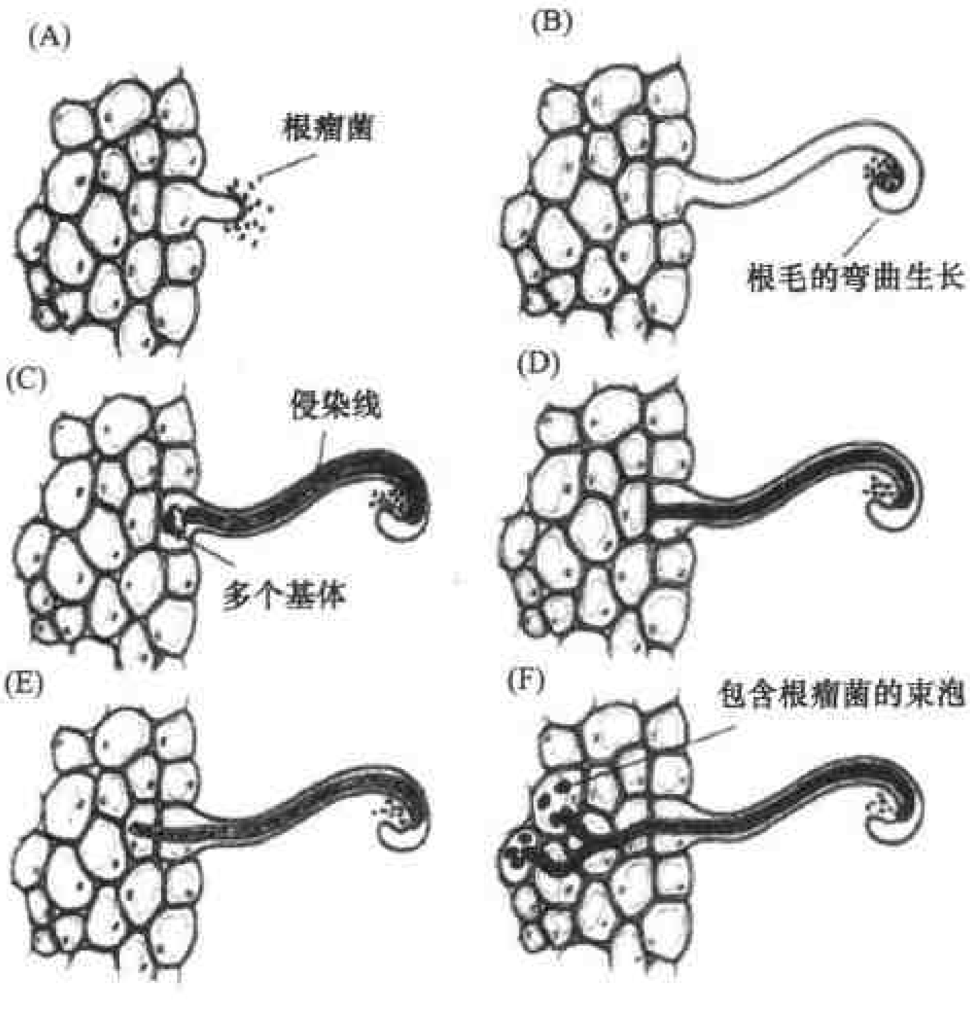



图5-13 根瘤菌侵染豆科植物根的过种(Taiz & Zeiger 1998)

5-13C)，即形成所谓根瘤菌侵染线。随着侵染线不断向内延伸而进入寄主根皮层细胞(图 5-13D、E、F)，使后者发生去分化而开始细胞分裂。皮层细胞的大量分裂生长最终导致了根瘤结构的形成。根瘤菌在根瘤结构中依赖消耗寄主植物的碳水化合物作为能量来源而执行固氮功能，根瘤菌固定的氮供寄主植物生长发育所需的氮源。

**2. 固氮酶**

根瘤菌及其他固氮微生物细胞内含有固氮酶(nitrogenase)，它催化还原分子氮为氨的反应：

$$N_2+8e^-+8H^++16ATP\xrightarrow{\text{固氮酶}}2NH_3+H_2+16ADP+16Pi$$

固氮酶由钼铁蛋白和铁蛋白两部分构成，两者都是可溶性蛋白质，任何一部分单独都不具有固氮酶的活性。从分子质量来说，铁蛋白是固氮酶较小的部分，铁蛋白是由两个相同亚基构成的同源二聚体，其分子质量在不同的固氮微生物中是不同的，在 30~72 kDa 之间。每一个铁蛋白组分含有一个 4Fe4S 簇，对固氮酶还原分子态氮过程中的电子传递负责。钼铁蛋白由四个亚基构成，其分子质量在 180~235 kDa 之间。钼铁蛋白含有两个钼原子和不同数量的 FeS 簇。在固氮酶催化的反应过程中(图 5-14)，由铁氧还蛋白提供的电子首先传递给固氮酶的铁蛋白组分，处于还原态的铁蛋白接着在水解 ATP 的同时将固氮酶的钼铁蛋白还原，然后钼铁蛋白再将电子传递至分子态氮使后者被还原。

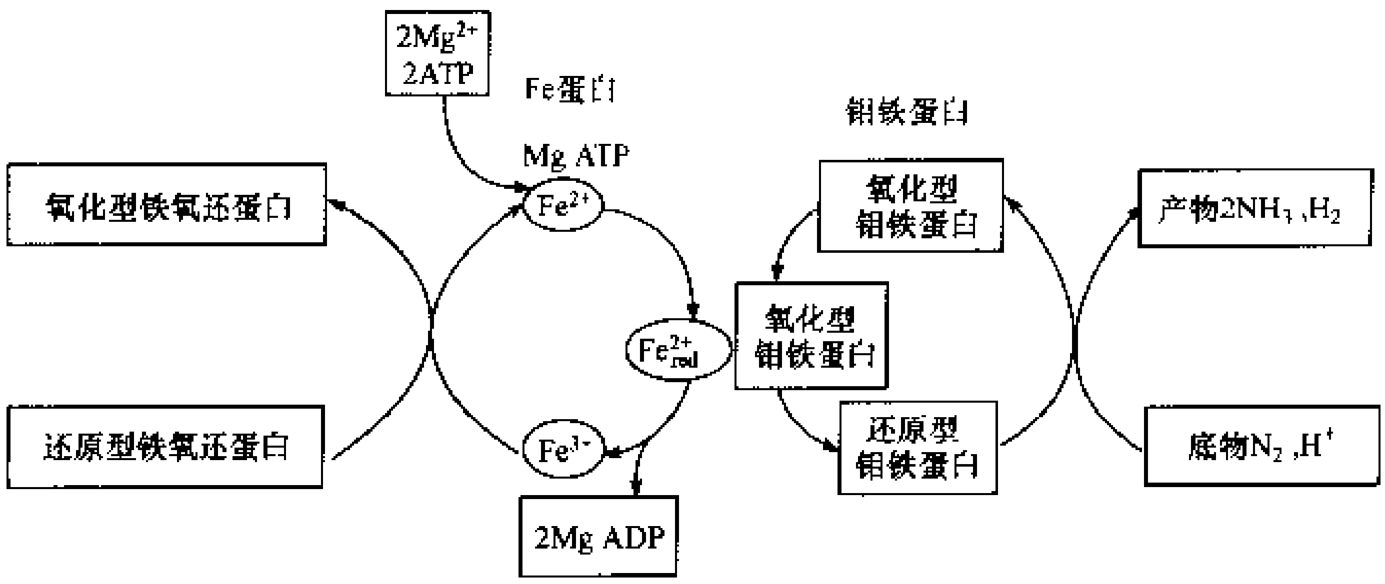



图 5-14 固氮酶催化的反应过程示意图

固氮酶中的铁蛋白和钼铁蛋白的活性都能被氧抑制，前者对氧极为敏感，其在氧作用下的失活半衰期仅为 30~45 秒；后者被氧抑制的失活半衰期则为 10 分钟左右。因此，固氮酶的正常活性要求几乎绝对的厌氧条件。

固氮酶除了能催化分子态氮转化为氨的反应外，还能催化其他多种底物的还原以及 ATP 的水解。表 5-6 列出了固氮酶能催化的反应过程。

**表 5-6 固氮酶催化的反应**

| 反应式 | 注 解 |
|---|---|
| $N_2\longrightarrow NH_3$ | 分子态氮被还原为氨 |
| $N_2O\longrightarrow N_2+H_2O$ | 氮氧化物被还原为氮 |
| $N_3^-\longrightarrow N_2+NH_3$ | 叠氮化物被还原为氮和氨 |
| $C_2H_2\longrightarrow C_2H_4$ | 乙炔被还原为乙烯 |
| $2H^+\longrightarrow H_2$ | 氢离子被还原为氢气 |
| $ATP\longrightarrow ADP+P_i$ | ATP 的水解 |

生物固氮是一高耗能过程，固氮酶每固定 1 分子 $N_2$ 要消耗 8 个 $e^-$ 和 16 个分子的 ATP。据估算，豆科植物依赖与其共生的根瘤菌每固定 1g 氮素要消耗 12g 的有机碳化合物。

**3. 根瘤菌固氮产物的转化和输出**

根瘤菌固氮作用的直接产物是氨，但氨对与根瘤菌共生的植物是有毒害作用的，因此，被根瘤菌固定的氮素在被转运至豆科植物根的木质部之前，在根细胞中被迅速转化成两类含氮有机物，酰胺类化合物和脲类化合物。温带生长的豆科植物一般将氨转化为酰胺类化合物后向茎部运输，而热带生长的豆科植物则多将氨转化为脲类化合物后上运。酰胺类化合物主要是谷氨酰胺和天冬酰胺，脲类

化合物则包括尿囊酸、尿囊素和瓜氨酸。这些含氮有机物被运送至寄主植物的地上部分后，通过氨基转移反应将氮素用于氨基酸等的合成。

## 二、硫的同化

硫是所有生物体内最重要的元素之一，对于植物也不例外。蛋白质中的二硫键在稳定蛋白质的空间结构、调节蛋白质的活性方面无疑具有不可替代的作用，硫元素参与的多种氧化还原电子传递过程（如在铁硫蛋白中作为 FeS 簇的成分）也是生命活动所不可或缺的，而许多酶和辅酶的催化区域含有硫元素（如脲酶和辅酶 A 等）则更使硫元素凸显出其在生命活动中的重要性。此外，植物体内的多种次生代谢产物也含有硫元素。

植物吸收的硫主要是硫酸根（$SO_4^{2-}$）形式，除了植物根系自土壤中吸收硫酸根离子外，植物叶片通过气孔也可能吸收少量 $SO_2$（进入植物体内溶于水后也以 $SO_4^{2-}$ 形式存在）。

植物合成含硫有机物的第一步是将 $SO_4^{2-}$ 还原合成半胱氨酸，而在此之前 $SO_4^{2-}$ 首先要被活化。硫酸根的活化是其与 ATP 作用而形成腺苷磷酸硫酸（adenosine-5′-phosphosulfate，APS），催化此反应的酶为 ATP 硫酸化酶。

$$SO_4^{2-}+ATP \xrightarrow{\text{ATP 硫酸}} APS+PP_i$$

虽然先前曾报道在其他植物细胞的细胞质和质体内都存在此酶，但近来对拟南芥的研究表明，ATP 硫酸化酶仅存在于质体中。

APS 还可被进一步活化形成 3′-磷酸腺苷磷酸硫酸（3′-phosphoadenosine-5′- phosphosulfate，PAPS）。之后，PAPS 在细菌、真菌等微生物中的主要代谢途径是被依次还原为亚硫酸（$SO_3^{2-}$）和硫化物（$S^{2-}$）。在植物中的另一种途径是 APS 或 PAPS 被先转化为与酶结合的硫代磺酸（R—$SO_3^-$），再被还原为硫代硫化物（R—$S^-$）。形成的硫代硫化物或硫化物与乙酰丝氨酸作为底物合成半胱氨酸。催化半胱氨酸合成的酶广泛存在于各种植物细胞的细胞质、质体和线粒体中。

在硫酸根被还原合成半胱氨酸的过程中，硫元素从 +6 价变为 −4 价，其还原过程中有 10 个电子发生转移，因此是一高耗能过程。也许正是由于此原因，大部分硫的还原过程在还原势较强的叶细胞中进行。另外，叶片光呼吸作用的中间产物丝氨酸作为半胱氨酸合成的底物也有利于硫的还原。被还原的硫大多首先被用于合成谷胱苷肽，然后经韧皮部被运送至植物各组织器官。在质体中，半胱氨酸也被用于合成蛋氨酸。

## 三、磷的同化

植物根系自土壤溶液中吸收的磷大多以 $HPO_4^{2-}$ 和 $PO_4^{3-}$ 的形式存在。磷的最主要同化过程是与 ADP 作为底物而合成生命活动的主要能量形式 ATP。有关 ATP 合成的过程在光合作用和呼吸作用的相关章节已经有详细介绍。ATP 中的磷可被直接用于各种含磷化合物的合成，如磷酸化的糖类物质和蛋白质、磷酯、核苷酸等等。

发生在叶绿体的光合磷酸化和线粒体的氧化磷酸化过程是植物同化磷元素的主要途径。除此之外，发生在细胞质的糖酵解过程也是磷被同化的重要途径（参见第八章）。

# 第四节　合理施肥的生理基础

由于耕地土壤中所含的可供植物吸收利用的有效矿物营养元素常常不能满足作物正常生长发育的需求，所以在作物生产中经常需要通过施肥来补充作物对矿质元素的需要。

## 一、作物需肥特点

首先，不同作物的需肥情况不同，施肥时应根据栽培作物的种类合理搭配氮、磷、钾肥的施用量。禾谷类作物如小麦、水稻、玉米等需要氮肥较多，同时又要供给足够的 P、K，以使后期籽粒饱满；豆科作物如大豆、豌豆、花生等能固定空气中的氮素，故需磷、钾较多。叶菜类则要多施氮肥，以保证叶片肥大、质地柔嫩；薯类作物和甜菜需要更多的磷、钾以保证碳水化合物在块根或块茎中的大量积累。棉花、油菜等油料作物对氮、磷、钾的需要量都很大，需充分供给。另外油料作物对 Mg 有特殊需要；而甜菜、苜蓿、亚麻则对硼有特殊要求。同一作物因栽培目的不同，施肥的情况也有所不同。如食用大麦，应在灌浆前后多施氮肥，使种子中的蛋白质含量增高；而用于酿造啤酒的大麦则应减少后期施 N，否则蛋白质含量过高会影响啤酒品质。

其次，施肥时应注意不同作物对肥料类型的要求不同。肥料主要有有机肥和无机化肥两大类。菌肥实际上并不能直接向植物提供矿物营养，但有协助植物吸收土壤中矿物营养的作用。施肥时应根据作物的种类和生产目的选择有利于作物生产的肥料种类。烟草和马铃薯用草木灰等有机钾肥比氯化钾等无机钾肥效果好，因为氯可降低烟草的燃烧性和马铃薯的淀粉含量（氯有阻碍糖运输的作用）。水稻宜施铵态氮而不宜施硝态氮，因为水稻体积内硝酸还原酶的活性较低，难以同化利用硝态氮。而烟草则既需要铵态氮、又需要硝态氮，因为烟草需要有机酸来加强叶的燃烧性，又需要在燃烧时散发香味。硝酸有利于有机酸的形成，而铵态 N 则能促进植物的次生代谢以合成芳香油类物质。因此烟草施用硝酸氨效果最好。另外，黄花苜蓿及紫云英吸收磷的能力弱，以施用水溶性的过磷酸钙为宜；毛苕、荞麦吸收磷的能力强，施用难溶解的磷矿粉和钙镁磷肥也能被利用。

另外，施肥时还应特别注意的是同一作物在不同生育期需肥不同，处于不同生长发育阶段的植物对矿质营养的种类和数量的要求有所不同。如在种子萌发期间，因种子胚乳内贮藏有丰富的包括各种矿质元素在内的营养物质，所以只需吸收水分即可萌发，特别是对于一些种子颗粒较大的植物（如蚕豆等）尤为如此。在幼苗阶段，虽然植株逐步开始吸收一些矿质元素，但需要量较少；而随着幼苗的长大，植株吸收矿质元素的量会逐渐增加。对于一年生植物，当植物进入由营养生长向生殖生长转变的时期以及开花结实期，对矿质元素的吸收利用达到高峰；之后，随着植株生长的减缓并进人衰老期，吸收矿质元素的需求逐渐下降。另外，植物在营养生长阶段需氮肥量较大，但在进入生殖生长期则需磷、钾肥较多。对于某种栽培作物，有一个时期施用肥料的营养效果最好，这个时期被称为植物营养最大效率期。一般作物的营养最大效率期是生殖生长时期。作物对缺乏矿质元素最为敏感的生长发育时期称为需肥临界期或营养临界期，如禾本科作物的幼穗分化期，油菜、大豆的开花期，棉花的盛花期等。一般来说，作物的营养最大效率期和需肥临界期是基本相同的。

因此，在作物栽培过程中，应根据作物的种类、作物不同生长发育阶段对矿质营养的需求特点等多方面因素来综合考虑施肥方案。

## 二、施肥指标

要合理施肥，就要全面掌握土壤肥力和植物营养状况，即所谓掌握合理施肥的科学指标。

通过对土壤营养元素的含量的测定即所谓掌握土壤营养丰缺指标对确定施肥方案有重要参考价值。在生产实践中常说的土壤肥力是一个综合指标，是由土壤的综合物理化学性质所决定的。由于不同作物对土壤中各种矿质元素的含量及比例要求不同，而且各地的土壤、气候、耕作管理水平也差别很大，所以施肥的土壤营养指标也因地、因作物而异（请参考有关作物栽培学及土壤学等相关书籍）。

而通过所栽培作物的形态、生理等指标（即所谓作物营养丰缺指标）来确定是否施肥及所施肥料

的种类，也是生产实践上常用的方法。所谓形态指标主要是指植株生长的快慢、植株的大小、植株的株型结构、叶片的形态和颜色等。其中以叶片的形态和叶色指标最为常用。表 5-5 列出了缺乏一些主要矿质元素时植株所表现的形态特征，在生产实践中还应根据作物的种类而选用适当的指标。所谓施肥的生理指标是根据作物的生理状况来判断作物是否缺乏某种或某些矿质营养元素，如测定植株体内的矿质元素、叶绿素、酰胺和淀粉含量等。测定叶片等组织中各种矿质元素的含量可以较直接地判断植株营养的丰缺情况。例如，当植株吸收氮素过多时，氮就以酰胺的形式被贮藏在叶片中，如在叶片中测到天冬酰胺则表示氮肥充足，否则表示缺氮应立即追施氮肥。又如，水稻叶鞘中淀粉的含量也可作为氮素的丰缺指标：氮肥不足导致淀粉在叶鞘中累积，所以叶鞘内淀粉愈多表示氮肥愈缺乏。植物体内有多种酶蛋白其活性依赖于作为辅基或活化剂的矿质元素，当这些元素缺乏时，相应的酶的活性会下降；如缺铜时抗坏血酸氧化酶和多酚氧化酶活性下降，缺钼时硝酸还原酶活性下降，缺锌时碳酸酐酶和核糖核酸酶活性降低，缺铁可引起过氧化物酶和过氧化氢酶活性下降等等。所以还可根据某种酶活性的变化来分析某一元素的丰缺情况。

总的说来，生理指标可靠、准确，是诊断作物营养状况的较好方法。由于测定生理指标需要一定的设备条件和技术，其推广应用对于零散的作物栽培有一定困难。但随着作物生产不断向大规模、产业化的方向发展，利用生理指标作为诊断作物营养状况的方法有着较好的发展前景。

### 三、提高肥料利用效率的措施

在作物栽培实践中除了适时适量地施入合适种类的肥料外，还要配合采取一些耕作措施以保证作物对矿质营养的利用效率。

首先，由于绝大部分矿质元素必须先溶于水才能被吸收利用，所以在施肥的同时适量灌水才能保证肥料的利用效率，当然，灌水的多少应根据肥料和作物的种类而定。其次，适当深耕并增施有机肥料可以改善土壤理化性质（如促进团粒结构的形成），不但可增加土壤保水保肥的能力，而且改善根系生长环境可使根系生长良好以扩大对水肥的吸收利用效率。而选择适当的施肥方式也能有效提高肥料的利用效率，如改表层施肥为深层施肥可有效减少矿质元素的流失等。此外，合理密植以保证通风透光而提高作物光合效率也是充分发挥肥料效益的重要措施。

## 第五节　植物的无土栽培

无土栽培是指用含有各种植物生长发育所需矿质营养元素的营养液培养植物的方法。植物的无土栽培方法在 20 世纪得到了较快发展，而且随着工业的发展、耕地的紧缺、人们对蔬菜、花卉等多种植物产品质量的要求不断提高等多种因素，植物无土栽培在 21 世纪将会有广阔的发展前景。图 5-1 表示几种植物无土栽培的装置情况。

### 一、无土栽培的种类和设施

**1. 无土栽培的类型**

在 1976 年召开的世界无土栽培会议上，人们对不同的无土栽培系统作了分类，表 5-7 列出了无土栽培类型的定义和特点。

上述这些无土栽培方法大致可归纳为两类，一类属于如图 5-1 所示的溶液培养方法（即水培），另一类为固体介质栽培方法。采用溶液培养方法时应注意不断补充营养液中的矿质营养成分。较先进的溶液培养系统最好配置有能够自动检测培养液中主要矿质元素（如氮、磷、钾、钙、镁、硫等）含量的

表 5-7　植物无土栽培的类型

| 类　型 | 定义和特点 | 举　例 |
| --- | --- | --- |
| 水培(water culture) | 植物根系浸没在营养液中的培养方法 | 如直接浸入法(图 5-1A)、营养膜技术(图 5-1B)、雾培法(图 5-1C) |
| 砂培(sand culture) | 植物根系生长在直径小于 3mm 的固体颗粒中 | 如将植物植于砂子、珍珠岩、塑料粒等固体无机物质中并淋浇营养液 |
| 砂砾栽培(gravel culture) | 植物的根系生长在直径大于 3mm 的固体颗粒中 | 如将植物植于砂砾、火山渣、塑料粒及其他无机物质中并淋浇营养液 |
| 蛭石栽培(vermiculaponics) | 植物根系生长在蛭石或蛭石与其他颗粒状无机物质的混合物中 | |
| 岩棉栽培(rockwook culture) | 植物根系生长在岩棉(石棉)、玻璃棉或其他同类物质中 | |

装置,并根据溶液中某种元素的缺乏情况而进行自动补充。固体栽培方法是由固体物质作为植株的固定支撑基质,这些固体物质中并不含有植物生长所需的矿质营养,因此也需要用营养液通过循环、淋浇、滴灌等方式供给植物矿质营养。无土栽培设施一般建立在能控制或调节温度、湿度、光照的温室或大棚内,当条件适当时,一年四季都能进行植物栽培。

## 二、植物无土栽培营养液

无论选用哪种无土栽培方法,都必须利用营养溶液供给植物矿质营养,因此营养液的矿质元素含量及比例、各种理化特性是无土栽培技术的关键。营养液是由含植物所需的各种矿质元素的化合物溶解于水配制而成。

营养液中绝大部分是水,对水质的要求依进行无土栽培的目的而有所不同。例如,在研究营养液新配方或某些营养元素的缺乏病症时,需要使用纯度较高的水(如蒸馏水或去离子水)来配置营养液,但对于一般蔬菜、花卉的栽培则可使用自来水、井水等。

营养液中含有植物必需的大量元素和微量元素,各种元素的浓度和不同元素之间的比例应根据生理平衡和化学平衡原则来确定,同时也应考虑到所栽培植物的种类。对于易形成难溶性化合物的阳离子和阴离子应控制其阴、阳离子浓度,以避免形成沉淀。营养液的渗透势一般为－0.03MPa ～－0.15 MPa 之间,较适宜的营养液渗透势在－0.09 MPa 左右。配置营养液时应根据不同目的而选用不同纯度的试剂。对于进行营养液新配方的研制或研究营养元素缺乏症等试验工作,最好用分析纯的试剂,尽管有时化学纯的试剂也能满足要求。而在较大规模的无土栽培生产实践中,除了微量元素需用化学纯试剂或药用试剂外,大量元素的供给多采用农业用品(如化肥或复合化学肥料)以降低成本。

pH 是营养液的重要参数,一般应控制在 5.5～6.5 之间。而且,由于在植物生长过程中会对其生长环境介质的 pH 产生影响,所以在营养液的使用过程中还应注意经常监测并调节其 pH。合适的 pH 不仅是直接影响植物根系生长发育的重要因素,而且 pH 还影响营养液中各种矿质营养的有效性。如当 pH 高于 7 时,磷、钙、镁、铁、锰、硼、锌等元素的有效性都会降低;而 pH 低于 5 时,由于 $H^+$ 浓度过高而对钙产生显著的拮抗,植物吸收钙减少而出现缺钙症。

溶液的含氧量也是影响植物无土栽培(特别是水培)的重要因素。实际上利用营养膜和雾培的方法就是为了增加植物根系能够获得足够的氧。生长在营养液中的植物根系,其呼吸作用所需的氧气主要是来源于营养液中的溶氧,因此在无土栽培过程中须不断对营养液进行补充溶氧。常用的向营养液补充溶氧的方法有:①充分搅拌溶液;②向溶液通气;③保持营养液处于流动循环状态;④利用化学试剂增氧。

此外，还应注意营养液的温度。一方面应使营养液温度不要过高或过低，如夏季的液温应不超过28℃、冬季的液温应不低于15℃左右；另一方面，在有条件的情况下可调节营养液温度使其低于气温2～4℃，因为对于大多数植物来说，适当的根冠间的温差有利于植物的生长发育。

各种文献中报道的营养液配方有许多种，而其中以美国植物营养学家霍格兰德(D. R. Hoagland)研究的营养液配方(见表5-3)应用最为广泛。很多其他的营养液配方大多也是参照霍格兰德的配方，根据自己的使用目的和植物的种类等因素而调整后形成的。

## 三、无土栽培的优点和发展前景

植物的无土栽培方法无疑有多种优点。首先，无土栽培可以不受环境条件的限制。地球上的许多地区都不适宜于种植植物，如极端寒冷地区、沙漠等。但在温室、大棚等保护地内进行植物的无土栽培则一般不受地域限制。以色列在沙漠上创造了所谓的农业奇迹，其中在以色列科学家和农户的努力下广泛应用无土栽培技术功不可没。在家庭、办公室等地方，也可充分利用窗台、阳台、走廊、屋顶及其空闲地方进行植物的无土栽培。

其次，由于无土栽培经常采用柱式或多层式培养等立体式栽培方式，故利用无土栽培技术可以大大提高土地使用效率。如利用柱式无土栽培方式种植生菜，可使种植面积达所占土地面积的3～5倍。这对于土地非常紧缺的我国而言尤其具有重要意义。而对于空间极为珍贵的情况(如空间站等)，高密度的无土立体栽培技术无疑具有其独特的优势。美国宇航局(NASA)自20世纪80年代开始，不间断地资助适于在空间站应用的植物无土栽培技术。

利用无土栽培生产的蔬菜、花卉等不仅产量高，而且品质往往优于一般土壤栽培的植物产品。如无土栽培的番茄除外观较好外，维生素C的含量也比土培番茄的提高30%，维生素A含量和矿物质含量也都有明显增加。无土栽培的花卉其各项指标均强于土培产品，如无土栽培的玫瑰多采用脱毒苗，花瓣上无病害造成的斑点，而且整体形状均匀、美观。

在当前"绿色农业"兴起的情况下，利用无土栽培方式生产"绿色"无污染植物产品也愈来愈受到关注。无土栽培过程中不存在杂草问题，因此避免了使用化学除草剂；而进行无土栽培的保护地(温室、大棚等设施)内也很少有病虫害，特别是没有由土壤感染而发生的病虫害，因此避免或极大地减少了农药的使用。因此，应用无土栽培生产的蔬菜、瓜、果等属于无公害食品。

无土栽培的另一重要特点是节约水肥。一般大田作物栽培灌溉水中的大部分都被蒸发、流失和渗漏了，被植物吸收利用的水仅是其中很少一部分。而无土栽培由于在相对封闭的环境中进行，水的蒸发量要少得多，而流失或渗漏则几乎为零。有研究报告表明，每生产1kg茄子，利用无土栽培方式所消耗的水分仅是土培方式所消耗水分的1/7。因此，在我国这样一个水资源严重匮乏的国家大力发展无土栽培，对实现我国的资源节约型可持续农业发展具有重大的战略意义。大田作物栽培中所施肥料的损失也是很大的。如大田中一般氮肥的利用率为30%～50%，其余部分或随雨水流失、或在土壤中的硝化细菌和反硝化细菌的作用下成为氮气进入大气中。又如磷酸盐在土壤中大部分被转化为难溶盐的形式，不能被植物吸收，当年利用率为20%。而无土栽培则没有以上在土壤中种植作物所存在的问题。

另外，无土栽培方式还便于使种植业实现工厂化。目前，世界上已有许多全自动化无土栽培设施和立体化无土栽培工厂。因此无土栽培具有十分诱人的广阔发展前景。

## 小　　结

通过无土栽培方法，人们了解到植物的正常生长发育必需碳、氢、氧、氮、磷、钾、硫、钙、镁、铁、锰、

硼、锌、铜、钼、镍、氯 17 种元素，故称这 17 种元素为植物的必需元素。其中碳、氢、氧是由 $CO_2$ 和 $H_2O$ 提供。其余 14 种主要由土壤提供，称为矿质元素。根据植物需要的多寡，将植物的必需元素分为大量元素和微量元素。

植物必需矿质元素在活细胞内除了可作为细胞结构物质的组成成分外，还参与代谢活动及生长发育的调节、细胞的渗透调节、细胞质的电化学平衡等多种生理生化过程。不同矿质元素的功能不同，植物缺乏某种矿质元素时呈现特征性病症。植物生长环境中的各种矿质元素种类、比例适当时，植物生长发育良好。

矿质元素只有溶解在水中才能被植物吸收。根系对同一溶液的不同离子或同种盐中阴阳离子的吸收速率不同，表明根系对矿质元素的吸收具有选择吸收的特性。

根系所吸收的溶质从根表皮被运送至中柱导管是通过共质体和质外体两条途径同时、交互进行的。进入根系导管的矿质元素和水随蒸腾流一起上运至植物的茎叶。根部吸收的矿质向上运输主要通过木质部，叶片吸收的离子在茎内向上或向下运输的途径主要通过韧皮部，但木质部与韧皮部之间存在横向运输。易被重复利用的元素如氮、磷、钾等多分布于代谢旺盛幼嫩部分，不易被重复利用的元素如钙、铁等多分布于老组织中。

根系吸收的氮素主要是硝酸盐和铵盐，前者被根系吸收后被还原为氨。硝酸盐还原在根部和地上部都可进行。氨的同化过程主要是先合成谷氨酰胺和谷氨酸，然后氨基再通过氨基转移酶的作用被用于其他氨基酸的合成。

栽培作物时应给作物根系创造最适的吸收养分的环境条件。施肥应根据作物的种类、不同生育期以及作物生产的目的等采取适当的相应措施，同时应注意各种养分间的平衡。

**思考题**

(1)名词解释：矿质营养，灰分元素，必需元素，大量元素，微量元素，有益元素，水培法，砂培法，单盐毒害，离子拮抗，平衡溶液，生理酸性盐，生理碱性盐，相对自由空间，诱导酶，硝酸还原，生物固氮，需肥临界期，无土栽培

(2)植物进行正常生命活动必需哪些矿质元素？用什么方法、根据什么标准来确定某种元素是否为植物的必需元素？

(3)讨论氮、磷、钾的生理功能及植物缺乏这些元素时的主要病症。

(4)下列化合物、酶蛋白或其他大分子物质中分别含有哪些植物的必需元素：叶绿素，碳酸酐酶，细胞色素，硝酸还原酶，多酚氧化酶，ATP，辅酶 A，蛋氨酸，NAD，NADP，铁氧还蛋白，核酸？

(5)植物缺素病症有的出现在顶端幼嫩枝叶上，有的出现在下部老叶上，为什么？举例加以说明。

(6)植物根系吸收矿质元素有哪些特点？

(7)比较白天和夜晚两种不同条件下，植物体内还原硝酸的速率是否相同？为什么？

(8)简述硝态氮进入植物体被还原以及合成氨基酸的过程。

(9)试述矿质元素在光合作用中的生理作用(结合第六、七两章内容)。

(10)为什么在叶菜类植物的栽培中常多施用氮肥，而栽培马铃薯和甘薯则较多的施用钾肥？

# 第二部分　植物体内的物质代谢及能量转换

## 第六章　光合作用Ⅰ:植物对光能的吸收与转换

### 第一节　光合作用概述

概括地讲,光合作用是植物(包括光合细菌)利用光能、同化二氧化碳和水制造有机物质并释放氧气的过程。光合作用不仅是植物体内最重要的生命活动过程,而且也是地球上最重要的化学反应过程。

地球上几乎所有的有机物质都直接或间接地来源于光合作用。光合作用是将太阳光能转换为可用于生命过程的化学能并进行有机物合成的生物过程。经光合作用所合成的物质不仅是植物合成其结构物质和维持其生命活动的能量物质的根本来源,同时也是其他生命有机体的结构和能量物质的根本来源。事实上,光合作用不仅是维持生命的能量来源,地球上大部分的能量物质也是经光合作用由太阳能而来,例如目前最重要的矿物燃料——石油和煤就是古代动、植物经久远的地质过程而形成的。光合作用是目前惟一知道的通过分解水产生氧气的生物过程。原始的地球大气中并没有氧气,目前的大气环境是在光合作用产生后经过亿万年的漫长过程逐渐形成的。现在的生物种类大多数是依赖于氧气的,从这个意义上讲,没有光合作用也就没有目前的生命形式。光合作用利用太阳的能量裂解水因而产生氧气,同时将空气中的二氧化碳还原为有机物,而需氧生物的呼吸作用又将有机物氧化为二氧化碳和水,因此形成了二氧化碳和氧的循环。由于光合作用,大气中的$CO_2$大约每300年循环一次,$O_2$大约每2000年循环一次。

光合作用的总体过程可以用以下的方程式表示:

$$6CO_2+6H_2O \xrightarrow{\text{植物,光}} C_6H_{12}O_6+6O_2 \tag{6.1}$$

式中$C_6H_{12}O_6$表示一个六碳的单糖,如葡萄糖。但是在以后的章节中将会讨论到,光合作用的直接产物并非六碳糖。因此光合作用的反应过程用下式表示更为恰当:

$$CO_2+H_2O \xrightarrow{\text{植物,光}} (CH_2O)+O_2 \tag{6.2}$$

式中$(CH_2O)$所表示的是糖的一部分。

光合作用通常可以根据其需光与否而分为光反应和暗反应,更确切一些讲,可将光合作用分为类囊体反应(thylakoid reactions)和碳固定反应(carbon fixation reactions)。在光反应过程中,植物吸收光能形成同化力,即NADPH和ATP(严格来说,ATP的产生并不直接需光),由于这些反应都是在叶绿体中的类囊体上进行的,因此也可以称之为类囊体反应。在暗反应过程中,植物利用光反应中生成的同化力固定二氧化碳,形成有机物,其主要形式是糖。

本章主要介绍光合作用中的类囊体反应,碳固定的过程将在第七章介绍。

# 第二节　光合作用的结构基础：叶绿体的超微结构

虽然植物体的绿色部分基本上都有进行光合作用的能力，但在高等植物体中进行光合作用的主要器官是叶片。叶片组织中有多种细胞组织，对于光合作用来说，最重要的细胞组织是叶肉。在进行光合作用的细胞中，叶绿体是进行光合作用的基本细胞器。

## 一、叶绿体的一般结构

在高等植物中，光镜下所观察到的叶绿体(chloroplast)一般为扁平的椭圆形，呈凸镜状。叶绿体的形状因植物种类不同而有很大差别，特别是藻类的叶绿体差异更大，可以是板状、带状、杯状、囊状等。高等植物的叶绿体平均直径为 4～6μm，厚约 2～3μm。大多数高等植物的叶肉细胞含有 50～200 个叶绿体，可占细胞质体积的 40%。叶绿体的大小和数目随物种、细胞种类、生理状况和环境而不同。例如，在同一叶片中栅栏细胞中的叶绿体要比海绵组织中多；生长在背阴地区的植物的叶绿体比生长在向阳地区的要大一些、多一些。叶绿体在细胞中一般均匀分布在细胞质中，有时也靠近核或细胞壁。外界条件(特别是光的强弱)常会影响到叶绿体在细胞内的位置分布。

叶绿体的超微结构如图 6-1 所示。叶绿体的外围是双层膜结构，双层膜中的外层膜称为外膜(outer membrane)或外被膜(outer envelope membrane)、内层膜称为内膜(inner membrane)或内被膜(inner envelope membrane)。叶绿体的外被膜和内被膜由单位膜组成，每层膜厚约 6～8nm，内外两层膜之间为 10～20nm 宽的电子密度低的空隙，称为膜间隙，叶绿体被膜具有控制代谢物质进出叶绿体的功能，但外被膜通透性较大，许多化合物如核苷酸、无机磷、磷酸衍生物、羧酸类等均可通过，内被膜对物质透过的选择性较强，是细胞质和叶绿体基质间的功能屏障，有些化合物如磷酸甘油酸、苹果酸、草酰乙酸等需由内被膜上的特殊载体的转运才能通过。

叶绿体内是类囊体(thylakoid)和基质(stroma)。类囊体是叶绿体内的膜形成的结构。所有光合

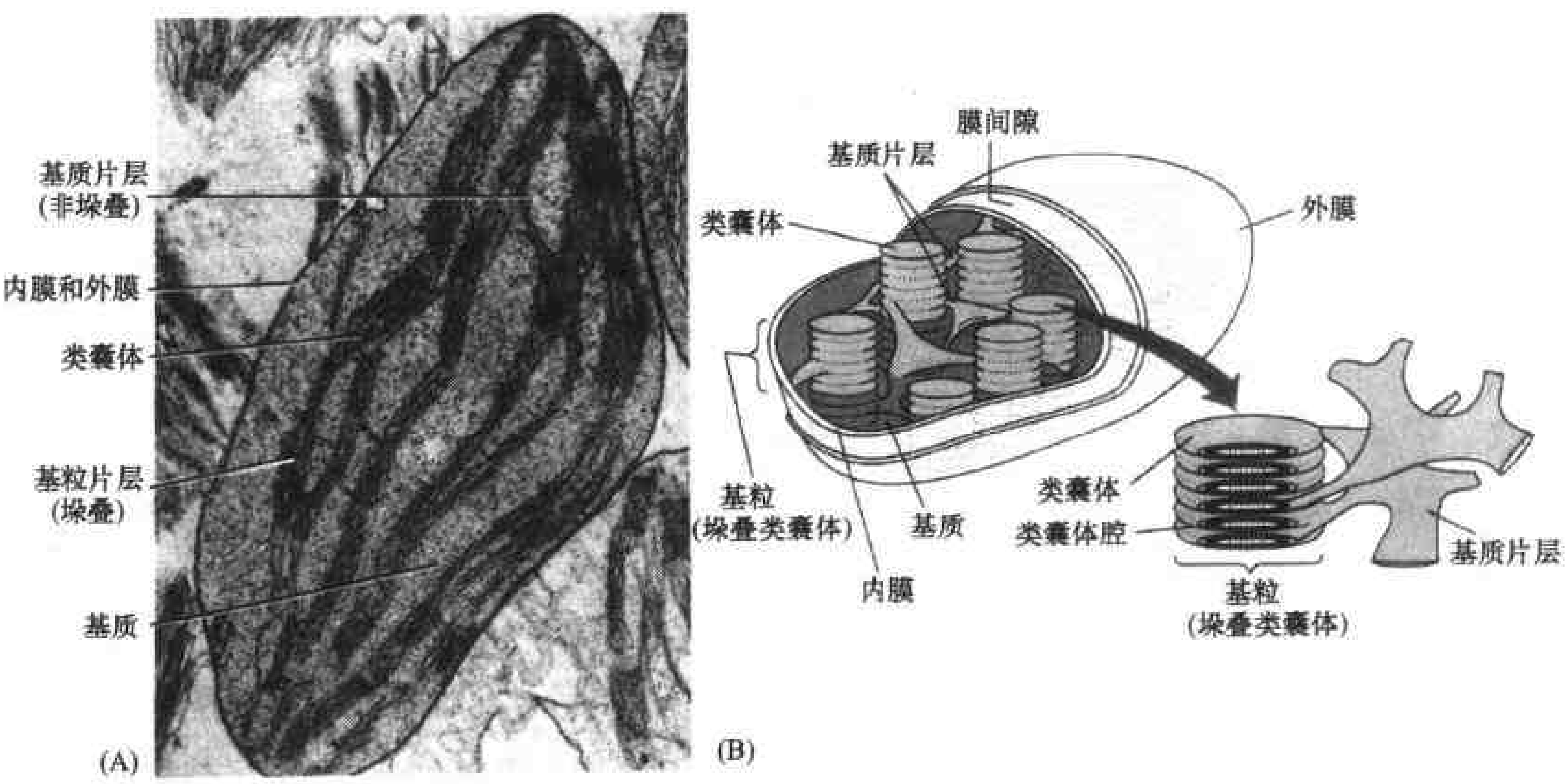



图 6-1　叶绿体的结构(Taiz & Zeiger　1998)

叶绿体的外围是内、外膜组成的双层膜结构。叶绿体内的膜结构是类囊体。类囊体外的空间称基质。垛叠在一起的类囊体膜片层称为基粒，连接基粒的非垛叠的类囊体膜片层称为基质类囊体。(A) 叶绿体结构的电镜图片；(B) 叶绿体和类囊体结构的示意图。

作用的色素都位于类囊体，光合作用的光反应也是在类囊体上进行，而碳固定的过程则是由叶绿体基质中的水溶性酶催化在基质中完成的。

叶绿体中具有其自身的 DNA、RNA 和核糖体，因此有其自身的遗传系统。许多蛋白质是由叶绿体的 DNA 编码，并在叶绿体中进行转录和翻译的。但是叶绿体中结构和功能所需的大部分蛋白质仍然是由核基因编码，并在细胞质中进行合成，然后被运入叶绿体中。蛋白质进入叶绿体需要一系列的蛋白质加工和识别过程，有关内容将在其他章节中介绍。

## 二、类 囊 体

参与光反应的蛋白复合体都位于类囊体膜上，同时类囊体结构对光能的吸收和传递、电子的传递和 ATP 的产生都有至关重要的作用。

### （一）类囊体结构

在叶绿体基质中，有许多由单位膜封闭形成的扁平小囊，称为类囊体（thylakoid）（图 6-1）。类囊体一般沿叶绿体长轴平行排列。在叶绿体中，许多圆盘状的类囊体叠置成垛称为基粒（granum，复数 grana）。组成基粒的囊束体称为基粒类囊体（granum thylakoid），其片层称为基粒片层（grana lamellae）。在基粒类囊体上形成垛叠的区域称为垛叠区（appressed region），暴露于基质的区域称为非垛叠区（nonappressed region）。贯穿在两个或两个以上基粒之间没有发生垛叠的类囊体，称为基质类囊体（stroma thylakoid），其片层称为基质片层。由类囊体膜所包围的类囊体内腔称为类囊体腔（thylakoid lumen）。基粒类囊体的直径约为 0.25～0.8μm。一个叶绿体含有 40～60 个基粒，一个基粒约由 5～30 个基粒类囊体组成，组成基粒的类囊体的类目依不同植物或同一植物不同部位的细胞而有很大变化，例如，烟草叶绿体的基粒有 10～15 个类囊体，玉米叶绿体则有 15～50 个。由于相邻基粒经网管状或扁平状的基质类囊体相连，使类囊体腔彼此相通，因而一个叶绿体内的全部类囊体实际上是一个完整连续的封闭膜囊，而类囊体膜将类囊体腔与基质分隔为两个部分。

### （二）类囊体膜的化学组成

类囊体膜的主要物质组成包括蛋白质、脂类和色素。蛋白质和脂类的重量比约为 1∶1，叶绿素，胡萝卜素，质体醌各占全脂质的约 20%、3%和 2.5%，糖脂和磷脂各占 50%和 14%。

**1. 脂类**

在类囊体中糖脂是主要脂类，而磷脂却较少，这一点与以磷脂为主要成分的线粒体和其他膜的构造有显著的不同，糖脂中含量多的是单半乳糖甘油二脂，约占 27%，其次是二半乳糖基甘油二脂，为前者的一半，此外尚含有三半乳糖甘油二脂，含硫的酸性糖脂——硫代奎诺糖甘油二脂，约占类囊体全膜的 7%～10%。磷脂中含量最高的磷脂酰胆碱，也不过占类囊体膜全部脂类的 4%～10%。类囊体膜与其他生物膜比较，不饱和脂肪酸，特别是亚麻酸的含量高，不饱和脂肪酸占类囊体膜内全脂肪酸的 80%，这表示类囊体膜是富于流动性的膜，膜中进行的反应不易受环境温度的影响。

**2. 蛋白质**

类囊体膜上有许多膜整合蛋白质（integral membrane proteins）。这些蛋白质有许多疏水片段插入类囊体膜内形成跨膜的片段，同时它们又有一部分突出于类囊体的基质一侧而另外一部分突出于类囊体的囊腔（lumen）一侧，因而在类囊体膜上形成具有特定方向的组成方式。光合作用中的许多蛋白质，如捕光天线色素蛋白，光反应中心蛋白等等都具有这样的特性，这些蛋白质在光合作用的光反应中起关键的作用。

类囊体膜是光合作用中光反应（电子传递和光合磷酸化）的结构基础，光能吸收的捕光色素蛋白

复合体、光系统Ⅰ和光系统Ⅱ，细胞色素 $b_6f$ 复合体，ATP 合成酶以及与电子传递有关的因子，都以一定的形式组建在类囊体膜上。

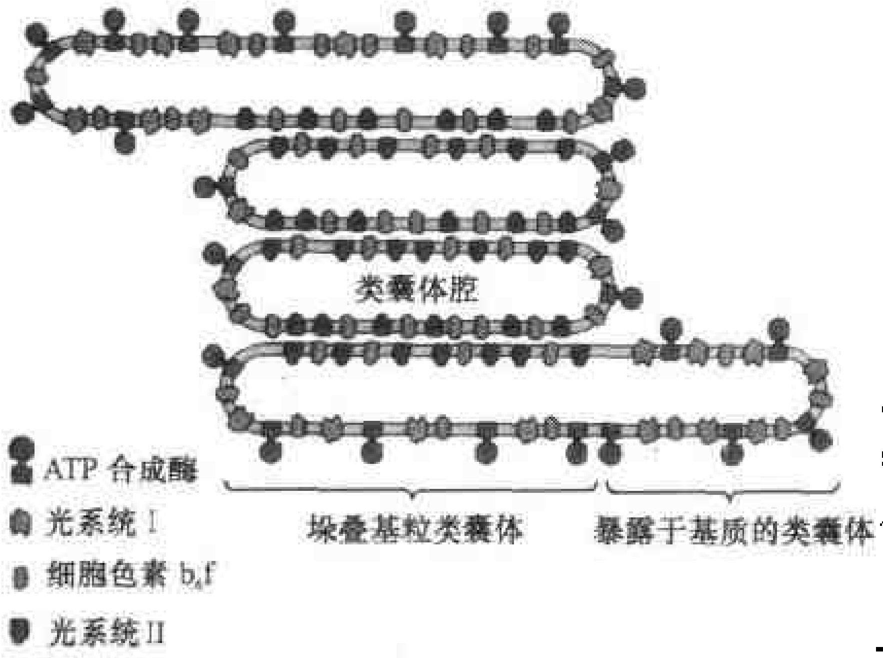



图 6-2　类囊体反应的蛋白复合体在类囊体上的分布
(Buchanan et al. 2000)
参与类囊体反应的蛋白复合体在类体膜上的分布是非均衡的，PSII 主要分布在类囊体的垛叠区域，PSI 主要分布在非垛叠区，细胞色素 $b_6f$ 复合体在两类区域的分布较均匀，ATP 合成酶则分布在类囊体膜面向基质的区域。

类囊体膜上的各蛋白复合体在类囊体膜上的分布是非常不均衡的，特别是基粒类囊体的垛叠区和基质内囊体上的蛋白复合体有相当大的不同(表6-1)。一般来说，光系统Ⅱ和光系统Ⅰ、ATP 合成酶在类囊体膜的横向分布上是分离的。光系统Ⅱ主要集中在垛叠的基质类囊体膜上，而光系统Ⅰ和 ATP 合成酶则主要分布于基质内囊体膜上或者基粒类囊体的边缘。细胞色素 $Cytb_6f$ 蛋白复合物在类囊体的膜上分布较为均匀。因此，光合作用的两个光反应系统在空间上是分离的(图 6-2)。

**表 6-1　参与类囊体反应的蛋白复合体在类囊体膜上的分布**

| 蛋白复合体 | 类囊体区域分布/% | |
|---|---|---|
| | 垛叠区 | 暴露于基质的区域 |
| PSII | 85 | 15 |
| SI | 10 | 90 |
| 细胞色素 $b_6f$ 复合体 | 50 | 50 |
| LHCII | 90 | 10 |
| ATP 合成酶 | 0 | 100 |

蛋白复合体在类囊体上的分布不仅是非均衡的，而且是动态的。蛋白复合体可以沿类囊体膜侧向移动，特别是捕光色素蛋白复合体和细胞色素 $Cytb_6f$ 复合物在基粒类囊体和基质类囊体间的运动在光能分配和电子传递的调控中有非常重要的功能。

# 第三节　光能的吸收和传递

植物光合作用中固定二氧化碳的同化力产生于一系列的电子传递过程，而这个电子传递过程的动力来自光能。利用光能，首先需要吸收光能，并且将吸收的能量传递到特定的光反应中心引发光化学反应，以推动电子的传递。

## 一、光的性质和光能的转换

现代物理学认为光具有波和粒子的双重性质。

首先光具有一定的波长和频率。波长和频率间的关系可用下式表示：

$$c = \lambda v \qquad (6.3)$$

其中 $c$ 为光的速度，$\lambda$ 为光的波长，$v$ 为光的频率。由于在一定介质中光的传播速率是恒定的(真空中的速率为 $3.0\times10^8$ m/s)，因此光的波长与其频率成反比关系。

光也具粒子的特性，光的粒子称为光子(photon)，每一粒子具有特定的能量，称为光量子(quantum)，因此光所包含的能量及其传递是量子化的。一个光子所包含的能量取决于其频率。这一关系可由普朗克定律(Planck's law)描述：

$$E = hv \qquad (6.4)$$

其中 $h$ 为普朗克常数($6.626\times10^{-34}$ Js)。

因此光量子的能量是与其频率成正比的，频率越高(或波长越短)的光量子具有较高的能量。波

长较长的光具有较低能量的光量子，而波长较短的光具有较高能量的光量子。

太阳光中包含了许许多多的不同波长的光子，但是人的肉眼所能见到的光只是到达地球表面的太阳光的一部分，各种不同颜色的光代表它们具有不同的光波长或频率，靠近光谱红色端的光具有较长的波长或较低的频率，而靠近紫色端的光具有较短波长或较高的频率，波长长于红色光的光是红外线，而波长短于紫色光的光是紫外线(图 6-3)。

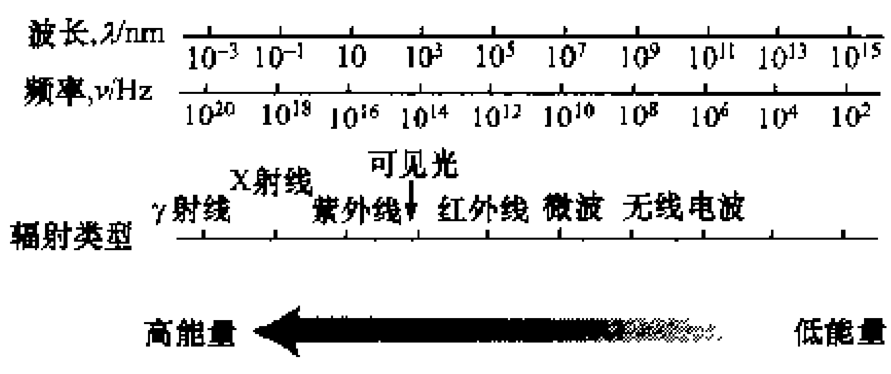



图 6-3 不同类型电磁波的波长、频率、能量关系 (Taiz & Zeiger 1998)

光波长(λ)与频率(ν)负相关。短波长光具有高的能量，而长波长光能量则较低。肉眼只能分辨一小段波长范围的光，即从 400nm(紫)至 700nm(红)的可见光范围。

不同的物质对光的吸收常有特征性的光谱吸收特性。我们所看到的物体的颜色是经该物体吸收后所反射出的光。例如，叶绿素主要吸收红色和蓝色谱段的光，因而在反射光中主要是绿色光，所以我们所看到的植物是绿色的。

物质吸收光能是以一个一个光量子的量子化形式进行的。当分子吸收光能后，即从分子能量的基态被激发到激发态。分子的激发态是不稳定的，分子在激发态停留的时间一般不超过数纳秒($10^{-9}$秒)，分子所吸收的光的能量会迅速地向邻近的分子传递或转变为其他的能量形式，而分子又由激发态回到基态。此过程即激发态的衰变(decay)。

这种能量的转变可以有多种形式，首先，分子所吸收的光能可以转变为热能而被释放。其次，分子所吸收的光能也可以以光能的形式释放，当分子吸收光能后，再以光能的形式将其释放出去，由于一部分能量已经转变为热，因此所释放的光量子的能量总是低于所吸收的光量子的能量，从光的波长的角度看，物质所发出的光的波长要长于所吸收的光的波长。这种物质吸收光能后，再以较长波长的光的形式将其释放出来的现象称为荧光现象，物质吸收光能后所发出的较长波长的光称为荧光(图 6-4)。再者，分子所吸收的光能可以迅速地向邻近的其他分子传递，例如叶绿素分子在吸收光能后可以向邻近的其他叶绿素分子传递所吸收的能量。第四，分子可以将所吸收的光能用于推动某种化学反应的进行，即进行光化学反应。光合作用的反应中心中所进行的原初反应即是光能所推动的氧化还原反应。

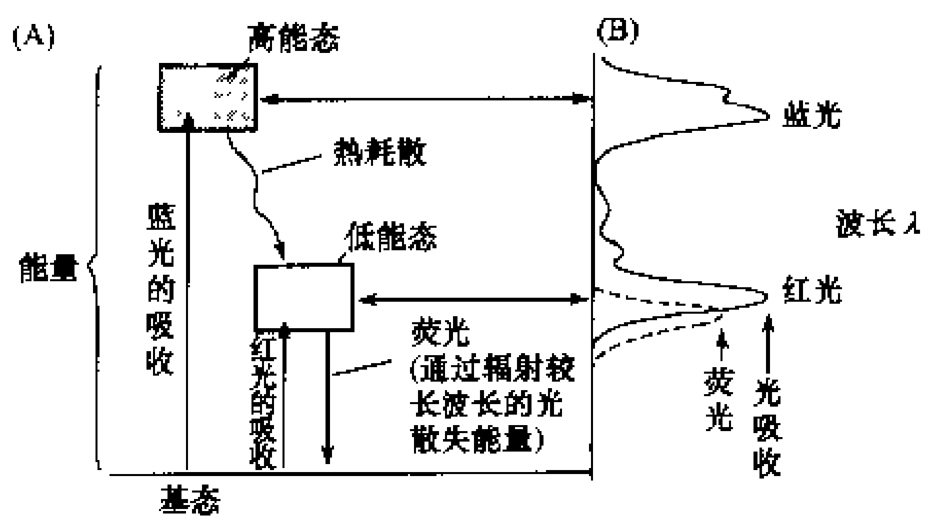



图 6-4 叶绿素的吸收和发射光谱(Taiz & Zeiger 1998)

(A)能量水平示意图；(B)吸收光谱和荧光光谱。

在激发态的衰变中主要采用上述途径中的何种方式常取决于各途径的能量转换速率，激发态回到基态所采用的能量转换途径一般是在该条件下能量转换速率最高的途径。某一途径在能量转换中所占的比例常用量子产率(quantum yield，以 Φ 表示)来表示。例如对于光化学反应可用下式表示：

$$\Phi = \frac{\text{光化学反应的产物量}}{\text{所吸收的光子的总量}} \tag{6.5}$$

Φ 的数值可以从 0 到 1.0，0 表示该途径不参与此条件下的激发态的衰退，而 1 则表示激发态的衰退完全通过此途径进行。各途径的 Φ 值的总和应该是 1.0。例如在弱光条件下，功能叶绿体的光化学的量子产率大约为 0.95，而荧光的量子产率为 0.5，其他途径的量子产率可忽略，说明在此条件下大部分的光能都被用于光化学反应。量子产率的倒数称为量子需求量(quantum requirement)，表示每一产物所需的光子数量。

对光合作用的产物，如 $O_2$ 的量子产率可以进行精确的测量，所测结果表明 $O_2$ 的最高量子产率大约为 0.1，即每产生一分子的 $O_2$ 大约需要吸收 10 个光子。这是由于每产生一分子的 $O_2$ 需要经过 4 个光化学反应，详细内容将在以后的章节中介绍。

## 二、叶绿体色素

光能首先是被色素分子所吸收的，光合生物中在光合作用过程中吸收光能的色素称为光合色素。在细胞中与光合作用相关的色素都位于叶绿体中。

### （一）绿色植物光合色素的性质及其吸收光谱

光合色素主要有叶绿素（包括细菌叶绿素）、类胡萝卜素和藻胆素三大类色素（图 6-5）。

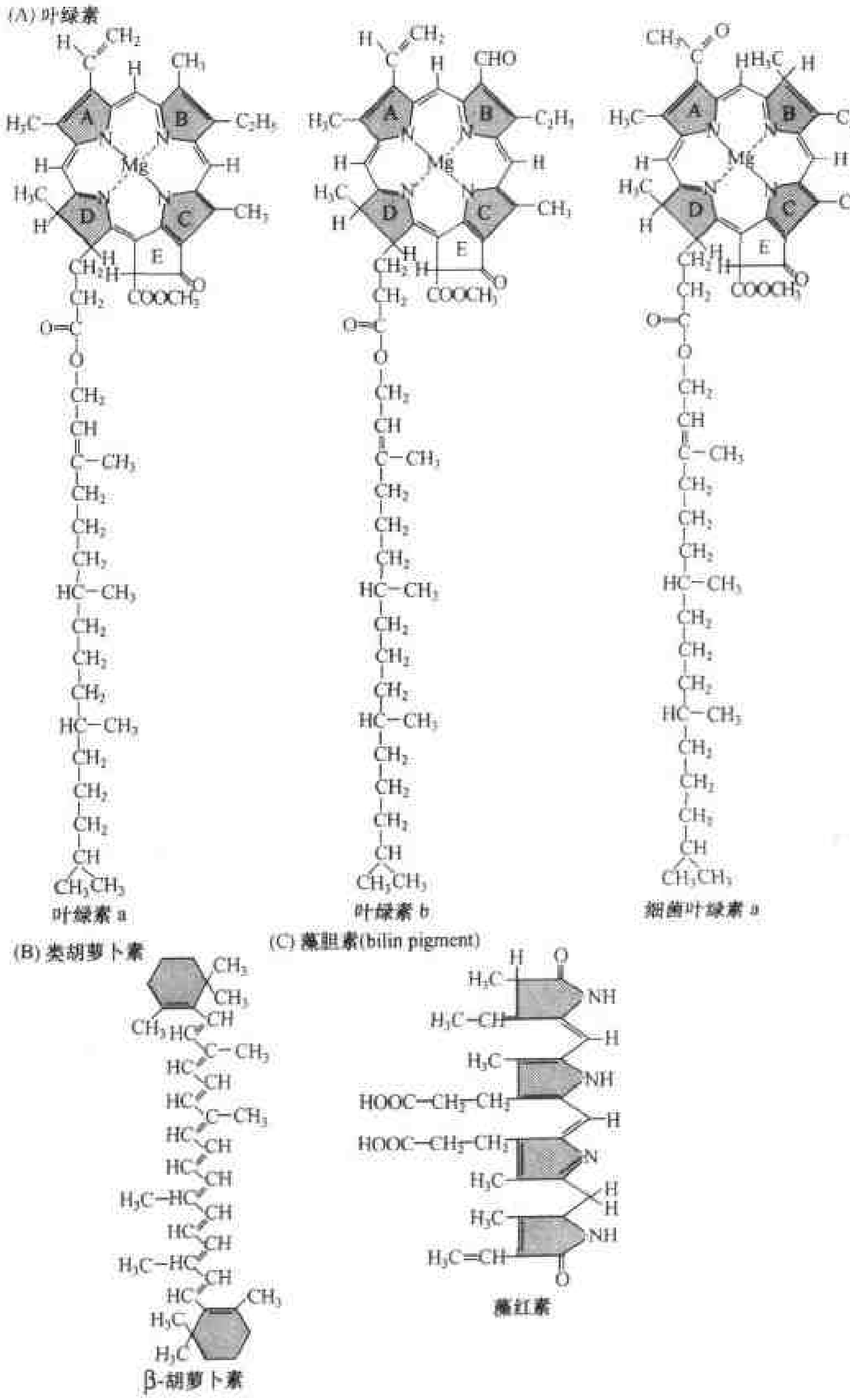



图 6-5　一些光合色素的分子结构（Taiz & Zeiger　1998）

（A）叶绿素分子有一个由 4 个吡咯环组成的卟啉环的头，在其中心，镁原子与四个氮原子配位结合。叶绿素分子的卟啉环中发生电子跃迁和氧化还原的部位，卟啉环是亲水的。尾部是疏水的，它插入膜的疏水区，起到定位作用。（B）β-胡萝卜素，由 8 个异戊二烯单位组成的一种四萜，含有一系列共轭双键，两头各有一个对称排列的紫罗兰酮环。β-胡萝卜素同时作为天线色素和光保护色素。（C）藻胆素是四个吡咯开环结构，存在于蓝细菌和红藻的藻胆体里。

绿藻和高等植物的叶绿素包括叶绿素 a 和叶绿素 b。叶绿素 a 呈蓝绿色，叶绿素 b 呈黄绿色。叶绿素分子含有一个卟啉"头部"和一条叶绿醇"尾部"。卟啉是由 4 个吡咯环和 1 个镁离子组成。类胡萝卜素是黄色或橙黄色的色素，是多聚异戊二烯长链分子，具有大量的共轭双键，分子的两端都有不饱和的取代的环己烯。类胡萝卜素包含两类色素：胡萝卜素和叶黄素。类胡萝卜素可以和色素蛋白复合体结合，是辅助色素(accessory pigment)，但能量从类胡萝卜素向叶绿素的传递效率比叶绿素间的要低。类胡萝卜素的另一项重要功能是进行光保护。类胡萝卜素可以猝灭激发态的叶绿素，而形成激发态的类胡萝卜素，激发态的类胡萝卜素则以热损耗的方式返回基态，这样就避免了多余的吸收能量对光合系统造成伤害。藻胆素存在于蓝绿藻和红藻中，化学结构类似于叶绿素，是由直线排列的 4 个吡咯环构成的化合物，没有叶绿醇长链和镁离子。

高等植物用于光合作用光能吸收和传递的主要色素是叶绿素，从功能上讲，叶绿素可以分为吸收和传递光能的叶绿素和参与光化学反应的叶绿素。大多数的叶绿素 a 和全部的叶绿素 b 都是参与吸收和传递光能的叶绿素，例如捕光色素蛋白复合体上的叶绿素。因此也将参与光能传递的叶绿素称为天线色素。另有一部分特殊的叶绿素 a 位于光反应系统复合体上，起光反应中心的作用，它们吸收从其他天线色素传递过来的能量用于推动光化学反应的进行，例如在 PSII 和 PSI 中光反应中心的特殊对叶绿素。无论是天线色素或是反应中心色素，叶绿素都是结合在特定的蛋白质上，组成色素蛋白复合体行使其功能。

光能被色素分子吸收后可能有几种命运，首先，光能可以被传递到光反应中心，用于光化学反应；其次，光能可以辐射成荧光的方式被散失掉；再者，光能可以热辐射的方式被损耗掉。色素发射荧光的能量与用于光合作用的能量是相互竞争的，这是叶绿素 a 荧光常常被作为光合作用无效指标的依据。此外，分子的荧光的特性是由该分子的化学性质及其周围环境因素的相互作用所控制的。因此，荧光测量是无损研究光合作用过程的重要手段。

不同光合生物的天线系统有很大区别。这种差别反映了物种对不同环境条件的适应以及生物分配两个光系统间光能的功能需要。天线系统的功能是将所吸收的光能高效地传递到与之相联系的光反应中心。不同光合生物的天线系统的大小有较大差别。在一些光合细菌中每一光反应中心大约具有 20～30 个天线色素分子；高等植物大约为每个光反应中心具有 200～300 个天线色素分子；而在一些藻类中，这一数值可以达到数千个。

光能在色素分子间的传递并非是以光的形式在天线色素间传递，目前常用的理论是共振转移(resonance transfer)学说(亦称 Foster transfer)。这种能量的传递过程有点类似于振动在音叉间的传递，当两个音叉足够接近时，一个音叉上的振动就可以传递到另一个音叉上。色素分子间的共振转移同样要求分子间有适当的角度和足够接近的距离。正是由于色素分子结合在天线色素蛋白复合体的多肽链上，天线色素分子间的角度和距离才得以确定和稳定。光能在天线色素间的传递效率是很高的，大约有 95%～99%的被天线色素所吸收的光能可以最终传递到光反应中心，用于推动光化学反应的进行。光能在分子间的传递过程与光化学反应是不同的，天线色素间的能量传递过程是单纯的物理过程，而光化学反应则涉及分子的化学变化。

当天线色素所吸收的光能在色素间传递时，传递的方向是被引导到光反应中心的。能量常通过一系列的色素分子向光反应中心传递，这些色素分子的光谱吸收峰值逐步向红端转移，越是接近光反应中心其光谱吸收峰越偏红端，说明能量在传递过程中是逐步降低的，例如光能从叶绿素 b 向叶绿素 a 传递，叶绿素 b 的光谱吸收峰为 650nm，而叶绿素 a 的光谱吸收峰为 670nm。色素间传递过程中所减少的那部分能量以热的形式被消耗掉。这样，能量从高向低的传递可以顺利进行而反向能量传递过程由于能量差的存在而难以进行。因此能量传递过程中的这部分损耗从表面上看是丢失了部分能量，但它保证了能量传递的方向性和不可逆性，使天线色素所吸收的光能能够顺利地、定向地传递到

光反应中心(图 6-6)。

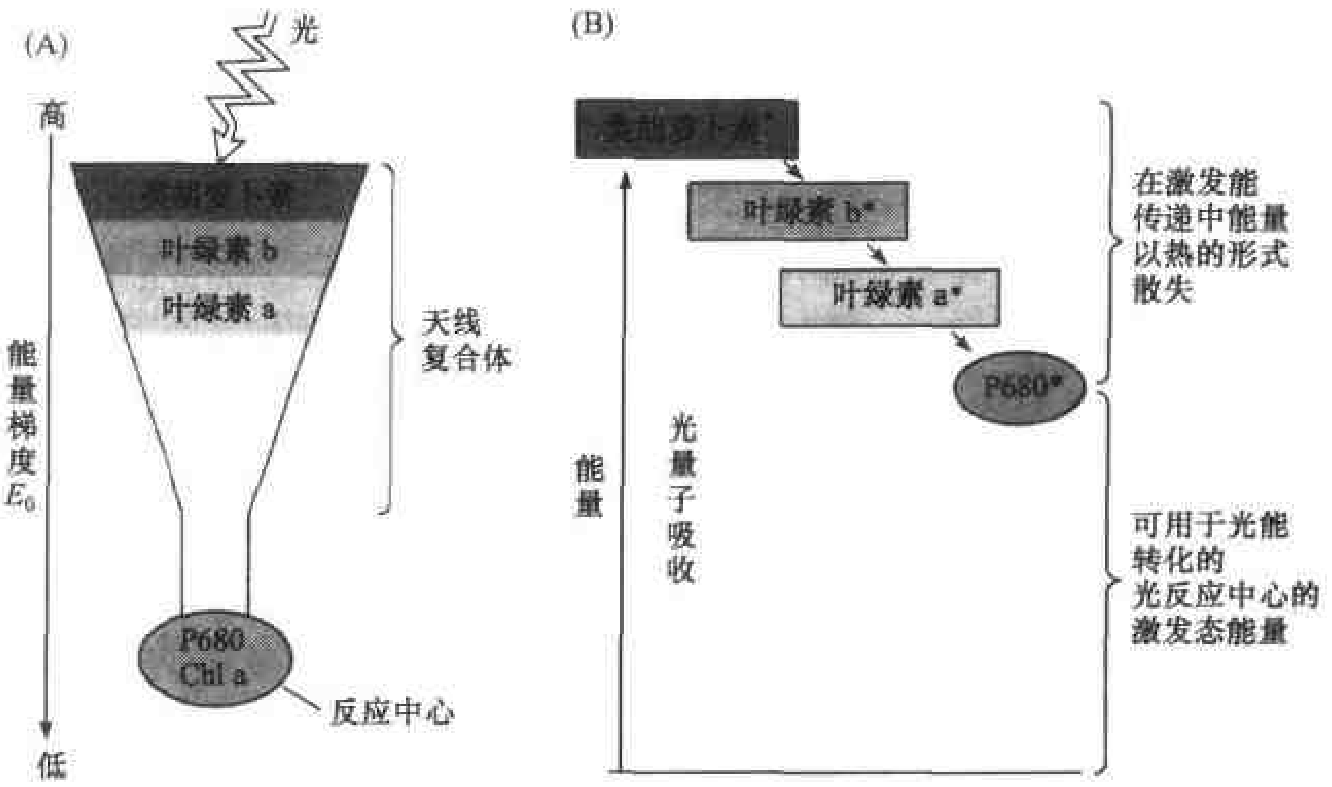



图 6-6 叶绿体色素之间的能量传递 (Taiz & Zeiger 1998)
光合色素距离反应中心越远,其激发能态就越高,这样就保障了能量向反应中心的传递。

天线色素分子都结合于蛋白质上组成天线色素蛋白复合体,这样就保证了色素分子间的适当的距离和夹角,有利于能量的高效传递。在大多数情况下,天线色素蛋白复合体是插入膜中的,是类囊体膜的膜蛋白。但在某些光合生物中也存在膜的外周蛋白,例如在不放氧的绿色细菌中存在位于膜外的称为绿色体(chlorosome)的天线色素复合体;在蓝藻或红藻的类囊体中有规则相间地排列在类囊体膜表面的称为藻胆体(phycobilisome)的色素蛋白复合体。

## (二) 叶绿素的生物合成和降解

叶绿素是光合作用中最重要的色素分子。叶绿素不仅是光能吸收和传递的主要色素分子,而且是电子的传递过程中必不可少的电子传递体,特别重要的是光合作用的原初光化学反应是在叶绿素分子上完成的。

叶绿素分子的生物合成是非常复杂的过程(图 6-7)。整个叶绿素的生物合成过程包括十余步酶促反应步骤。可以分为若干个阶段。各阶段是可以相互分离的,但是又是高度协调和控制的。由于游离的叶绿素分子以及其合成过程中的中间产物是色素分子,它们可以有效地吸收光能但是却无法将能量传递出去,结果就会形成对细胞有伤害的单线态氧,因此在叶绿素的生物合成过程中对各阶段的严格控制和协调是非常关键的。

在叶绿素生物合成的第一阶段,谷氨酸首先被转变为氨基 γ-酮戊酸,δ-氨基乙酰丙酸(5-aminolevulinic acid,ALA)。在这一反应过程中谷氨酸共价地结合到 tRNA 上形成中间产物(这也是 tRNA 被用于蛋白质合成以外的极少数小分子生物合成过程中的一例)。之后,两分子的 ALA 聚合成胆色素原(porphobilinogen,PBG)。PBG 将最终形成叶绿素的吡咯环。下一阶段是 4 个分子的 PBG 聚合形成卟啉结构。这一阶段包括六步酶促反应,最终形成原卟啉 IX(protoporphyrin IX)。

这里是一个叶绿素和血红素的生物合成的分支点。在此分支点之前,所有的反应步骤都是相同的,而之后的反应是向合成叶绿素进行或向合成血红素进行取决于何种金属离子被插入卟啉的中心。如果被插入的是镁,反应将向合成叶绿素进行;如果插入铁则反应向合成血红素进行。催化镁插入卟啉的中心的酶是镁螯合酶(chelatase)。

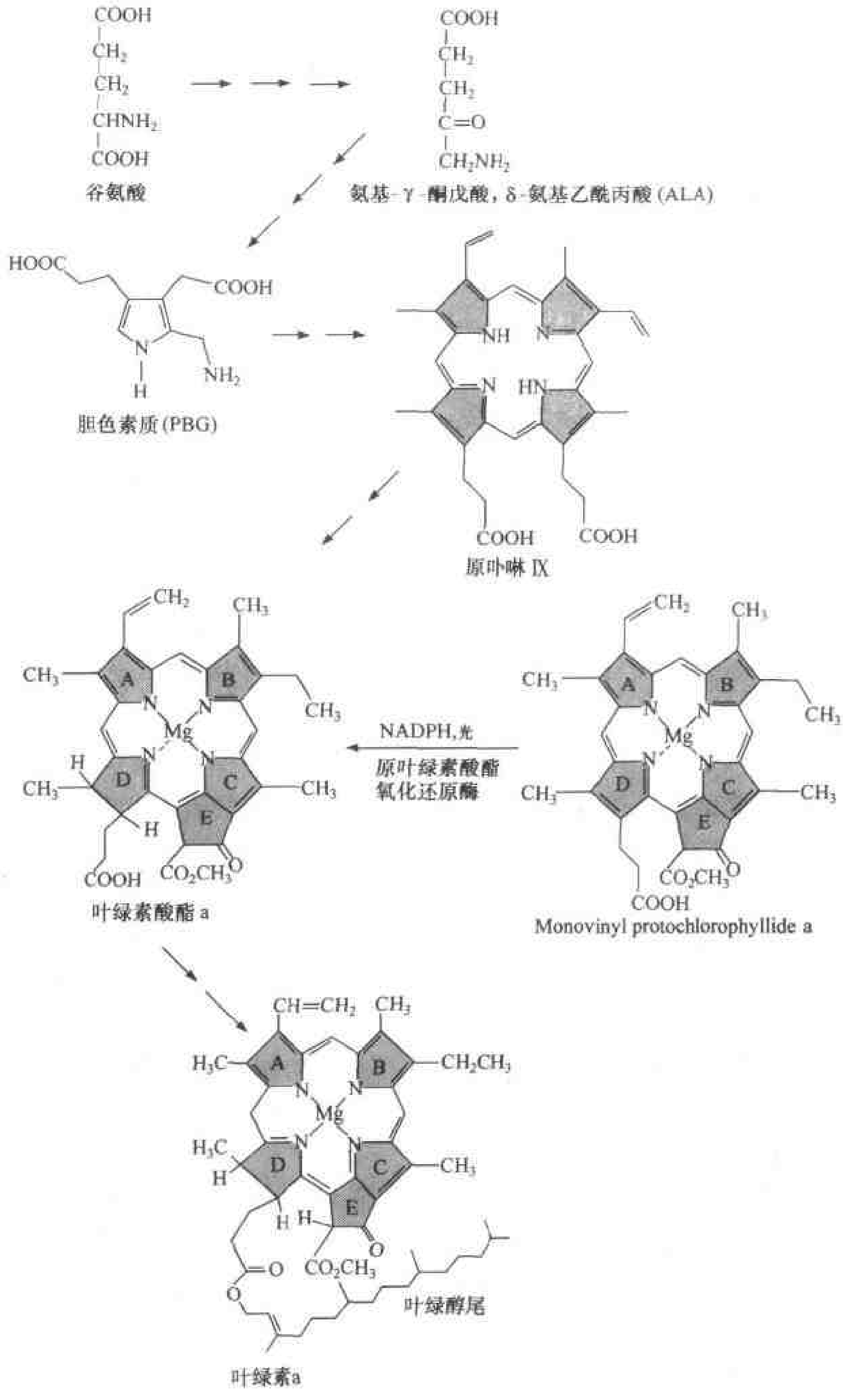



图 6-7 叶绿素的生物合成途径 (Taiz & Zeiger 1998)

下一阶段是使丙酸(propionic acid)的一条侧链环化，形成叶绿素的第五个环(E 环)，生成原叶绿素酸酯(protochlorophyllide)。这一过程需利用 NADPH 还原 D 环的双键，在被子植物中催化这一过程的酶是原叶绿素酸酯氧还酶(protochlorophyllide oxidoreductase, POR)，是一被光所驱动的反应。非放氧的光合菌则采用不同的酶催化这一步骤而不需要光的驱动。蓝细菌(cyanobacteria)、藻类、低等植物和裸子植物同时具有需光的 POR 途径和不需光的途径。在暗中生长的种子植物由于无法满

足POR途径的需光条件因而无法合成叶绿素，结果形成黄化苗，黄化苗在光下会迅速地合成叶绿素，转变为绿色。叶绿素生物合成的最终步骤是将加上叶绿醇(phytol)的“尾巴”，这一步骤是由叶绿素合成酶催化完成的。

叶绿素的降解过程是由完全不同的酶促反应完成的。首先是由叶绿素酶(chlorophyllase)作用下将叶绿醇尾除去；再由镁脱螯合酶(dechelatase)将镁除去；之后再由依赖于氧的加氧酶将卟啉结构打开，形成四吡咯(tetrapyrrole)；四吡咯进一步形成水溶性的、无色的产物。这些代谢产物被输出衰老的叶绿体并进入植物液泡。叶绿素的代谢产物并不被循环使用，但与叶绿素结合的色素蛋白却是被重复使用的。

## (三) 叶绿素蛋白复合体

叶绿体中的叶绿素有两个重要的特点：首先，所有的叶绿素都位于类囊体膜上，叶绿体膜上没有叶绿素(但有少量类胡萝卜素)，这一点和所有的光反应都是在类囊体膜上进行是一致的；其次，所有的叶绿素都以非共价键排列在特定的蛋白质上，以蛋白复合体的形式存在，叶绿素和叶绿素蛋白间是以非共价键结合，并插入膜内。在许多情况下，是由组氨酸残基与叶绿素上的镁离子形成配位键。一个叶绿素蛋白的多肽链上常结合多个叶绿素分子。

叶绿素的疏水叶绿基(phytyll)可能位于蛋白质和膜脂间，而其亲水的卟啉环可能位于蛋白质内。这是因为叶绿素必须有严格的空间排列(方向、距离等)才能保证能量按一定方向高效传递，而蛋白质提供了安排叶绿素的框架。因此光合作用的光能吸收和传递都是由类囊体膜上的叶绿素蛋白复合体完成的。

大约有90%的叶绿素结合在三类蛋白复合体上：① PSI和它的天线色素蛋白，也称为P700叶绿素a复合体或叶绿素蛋白复合体I，简称CPI；②捕光叶绿素a/b复合体，简称LHC；③PSII和它的天线色素蛋白，简称CPa。

如果按色素蛋白所含的叶绿素分类，则主要有两类叶绿素蛋白复合体：叶绿素a蛋白复合体和叶绿素a/b蛋白复合体。这些蛋白复合体上还有胡萝卜素或叶黄素，主要起保护光合系统的作用。

**1. 绿素a蛋白复合体**

叶绿素a蛋白复合体具有下列的一些共同性质：①结合叶绿素a，含有β-胡萝卜素；②为高疏水性蛋白，与反应中心紧密连系；③它们的分子质量一般高于叶绿素a/b复合体；④它们都是叶绿体基因编码的蛋白(而a/b复合体通常为核编码)。

构成叶绿素a蛋白复合体的主要组分是光反应系统I复合体和光反应系统II复合体的叶绿素蛋白复合体CPI和CPa。CPI的分子质量约110kDa，结合了叶绿素总量的30%，无叶绿素b，CPI外围也可能有其内天线结合，组成一个功能单位，每一个P700分子约含有100个叶绿素分子。CPa结合了大约叶绿素总量的10%。

**2. 叶绿素a/b蛋白复合体**

叶绿素a/b蛋白复合体又称聚光复合体或捕光色素蛋白复合体(light harvesting complex，简称LHC)，它是类囊体膜上最丰富的蛋白复合体，LHC结合了叶绿素a总量的50%和所有的叶绿素b，LHC不参与光化学反应，只起光能传递的作用。

叶绿素a/b蛋白复合体也具有一些共同的性质：①结合叶绿素a和b；②分子质量为20～30kDa，并且由核基因编码；③光诱导合成，在黑暗中生长的植物缺失a/b复合体，在光下合成；④叶绿素a/b蛋白复合体具有某些共同的氨基酸序列，用免疫方法证明，一种a/b蛋白复合体的抗体可以与其他a/b蛋白复合体有交叉反应，说明它们在结构上有共性，基因序列分析的结果也表明它们具有某些同源的序列。

在叶绿素 a/b 蛋白复合体的分类上，将叶绿素 a/b 蛋白复合体分为两类，即 LHCI 和 LHCII，LHCI 为 PSI 的天线，而 LHCII 为 PSII 的天线，它们之下又分为多种类型(表 6-2)。

**表 6-2 叶绿素捕光色素蛋白复合体的性质**

| 复合体 | 叶绿素 a/b 比率 | 基因 | 分子质量/kDa |
|---|---|---|---|
| **与光系统 PSI 连系的捕光复合体(LHC)** | | | |
| LHC-Ia | 2.0～3.1 | *lhca3* | 20.5 |
| (LHC-I 680) | | *lhca2* | 18 |
| LHC-Ib | 2.2～4.4 | *lhca1* | 20 |
| (LHC-I 730) | | *lhca4* | 20 |
| **与光系统 PSII 连系的捕光复合体** | | | |
| LHC-IIa | 4.0 | *lhcb4* | 29 |
| (CP29) | | | |
| LHC-IIb | 1.35 | *lhcb1* | 27～28 |
| | | *lhcb2* | 25～27 |
| | | *lhcb3* | 25 |
| LHC-IIc | 2.9 | *lhcb5* | 26.5 |
| (CP26) | | | |
| LHC-IId | 1.51 | *lhcb6* | 24 |
| (CP24) | | | |

(1) LHCI　　LHC I 是光系统 PSI 的内天线，含有约 100 个叶绿素分子，叶绿素 a 和 b 的比率 a∶b=3～4；具有 4(或 5)条多肽，分子质量大致在 10kDa～23kDa 之间。LHC I 至少具有两种不同的色素蛋白复合体，一种具 730nm 的低温荧光，称为LHCI-730，另一种具 680nm 低温荧光，称为LHCI-680。它们可能具有不同的叶绿素组成。

(2) LHCII　　LHCII 是 PSII 的天线，又分为 LHCIIa(又称 CP29)、LHCIIb、LHCIIc(又称 CP26)和 LHCIId(又称 CP24)。CP29 由两条多肽链组成，叶绿素 a∶b 为 4～5(高于 LHCII 的 1.2)。

LHCIIb 是最早发现的叶绿素 a/b 复合体，是叶绿素 a/b 蛋白复合体的主要类型，因此在许多文献中将 LHCIIb 简称为 LHCII，而将 LHCIIa、LHCIIc 和 LHCIId 称为 CP29、CP26 和 CP24。我们在下文中也将采用这样的提法。

植物中大约有 50%的叶绿素是和 LHCII 结合的。它是光合系统 PSII 的主要天线，主要分布在类囊体的垛叠区。LHCII 的单体含有 12 个叶绿素分子(7 个叶绿素 a 与 5 个叶绿素 b)，2 个类胡萝卜素分子。LHCII 的主要功能是进行光能的吸收和传递，提高捕光面积和捕光效率；此外，LHCII 在光能分配的调节以及光保护反应中也具有重要的作用。

自然状态下有生理活性的 LHCII 是其三聚体。在三聚体形成过程中，首先形成单体，然后形成三聚体。三聚体的形成与磷脂有关。如果将分离的三聚体用磷酸脂酶水解掉磷脂，三聚体就离解成单体。因此磷脂有稳定三聚体的作用。不同的膜脂可以使 LHCII 形成结构不同的聚合体。LHCII 的多肽组成尚有争议，有多肽说和单肽说两种假设。多肽说认为 LHCII 是由多种多肽(如三种不同的多肽)组成的异多聚体，提出的多肽有 23 kDa、25 kDa、27kDa 等等；而单肽说则认为 LHCII 由一种多肽组成的寡多聚体，如 26 kDa 多肽。

Kuhlbrandt 等用电子结晶学方法以 3.4Å 的分辨率确定了 LHCII 的结构(图 6-8)。LHCII 的单体有 A、B、C 三个跨膜的 α 螺旋片段，分别由 31、33 和 20 个氨基酸残基构成，其长度分别为 46Å、49Å 和 30Å，并与膜表面分别形成 25、30 和 11 度的角度。A 和 B 间有一定角度的交叉和绞合，它们的一

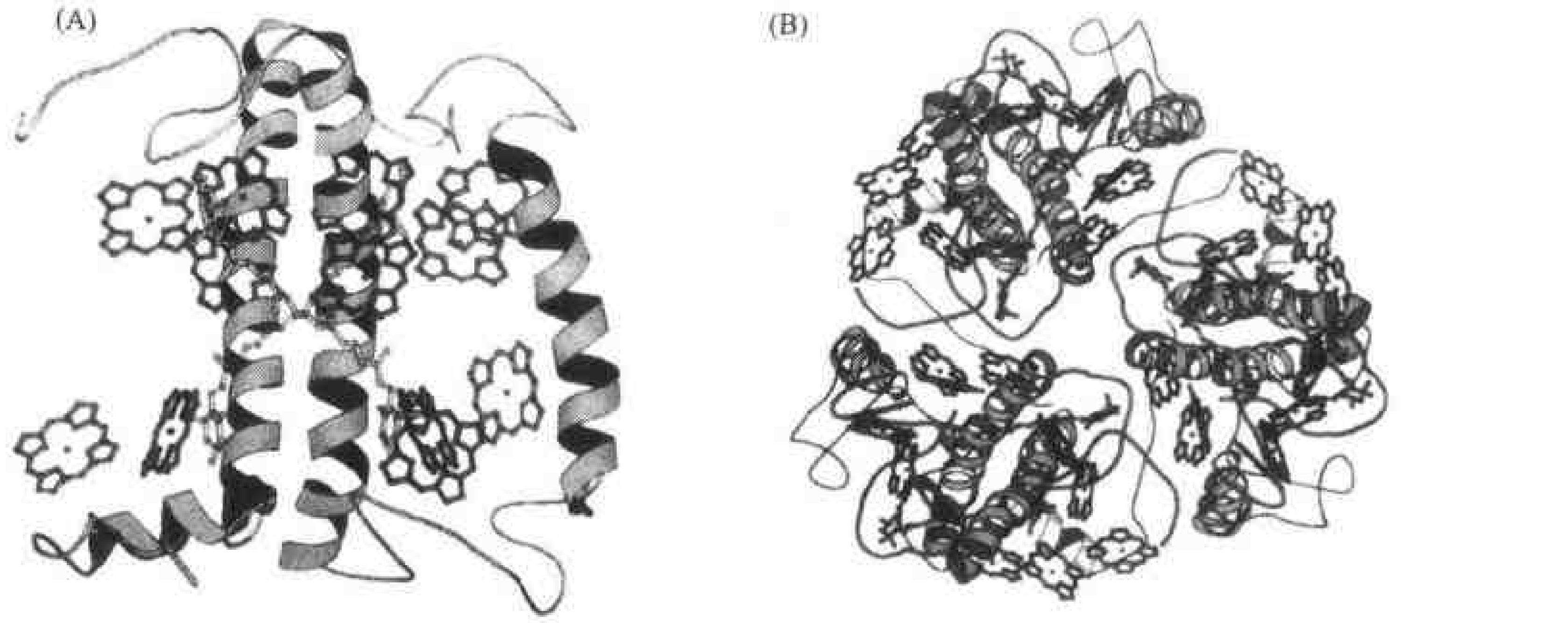



图 6-8 高等植物捕光天线蛋白复合体 LHCII 的结构 (Buchanan et al. 2000)
(A)HCII 的单体结构示意图;(B)LHCII 的三聚体示意图.

部分和螺旋间的连接序列位于膜外,C 则完全埋在膜内。各螺旋的顺序是 A、C、B。叶绿素的卟啉环相对于膜平面垂直、分上下两层排列。其中一层的叶绿素卟啉环大致形成一圈,而另一层则大致形成新月形,两层间在一端相互倾斜,使两层间的叶绿素卟啉环相互接近到 13～14Å 的距离。

叶绿素在 LHCII 中的排列保证了其间的适当距离和角度,使能量可以在其间高效地传递。

CP29 可能与 PSII 的光反应核心紧密结合。CP24 可能有一条多肽,叶绿素 a∶b 小于 1。它可能位于 PSII 的外围。

# 第四节 光反应中心和电子传递过程

## 一、光合作用的光化学反应

在绝大多数生物中,利用光能生成化学能的过程都是光化学反应,即利用光能推动氧化还原反应的进行。在适盐的细菌 *Halobacterium halobium* 中发现一类光驱动的质子泵,质子的传递是光诱导的构象变化而不是氧化还原所驱动的。光被跨膜的视黄醛(retinal)结合蛋白吸收后,引起构象变化,将质子从细胞质排出,质子再经膜上的 ATP 合成酶流回细胞质,利用跨膜 pH 梯度产生 ATP。这是目前所发现的惟一的不同于光合作用的利用光能产生 ATP 的形式。

光合作用是生物体中最大规模的利用光化学反应进行生物合成的过程。光合作用中的光化学反应是在光合反应中进行的。当叶绿素吸收的光能传递到光反应中心时,在光反应中心会发生一个光化学反应。这个光化学反应的重要特点是形成电荷的分离。光化学反应的过程可以用一个中心色素分子 P(在这里中心色素分子也是原初电子供体)、电子供体 D 及一个原初电子受体 A 在受到光能激发后的电荷分布变化来说明。在原初反应过程中,天线色素分子吸收的光能经传递到达反应中心的中心色素分子 P,P 被激发成激发态 $P^*$ 同时给出电子给原初受体 A,这时 P 被氧化成为带正电荷的 $P^+$ 而 A 被还原为带负电荷的 $A^-$,这样就形成了电荷分离。电荷分离可以进一步进行,$P^+$ 又可以从电子供体 D 获得电子,D 则被氧化为 $D^+$,其结果是 D 被氧化而 A 被还原,P 又恢复到原状。此过程可归纳如下:

$$D.P.A \xrightarrow{h\nu} D.P^*.A \longrightarrow D.P^+.A^- \longrightarrow D^+.P.A^- \qquad (6.6)$$

原初的电荷分离经过一系列电子载体的传递就形成了电子的流动。电荷分离的原理之一在于各电子传递体在空间上排列成适合于电子正向传递的状态,而不利于电荷重新结合(recombination)。

这些电子传递载体不仅要有相应顺序的氧还电位，而且在空间上也有严格的分布要求。这样的空间分布是由蛋白复合体的形式进行组织的。一系列的电子传递载体结合在蛋白多肽链上并组成蛋白复合体，形成了固定的最有利于电子传递正向传递进行的几何排列。电子的传递方向是由电位低的载体向电位高的载体进行，每一步电子传递都会伴随着能量的损耗，这样的能量消耗阻止了电子的逆向传递，也就保证了电子有效的正向传递。

## 二、光反应中心

光合作用的反应中心是植物吸收光能进行原初光化学反应的场所，它是由原初电子供体(primary electron donor，P)、原初电子受体(primary electron acceptor，A)等电子传递体，以及维持这些电子传递体的微环境所必需的蛋白质组成的色素蛋白复合体。

### (一) 需氧光合生物具有两个光反应中心

需氧光合生物具有两个光反应中心的发现最初来自观察到红降和双光增益的现象。

Emerson 发现当用波长在 680nm 以上的光照射时，虽然在叶绿素吸收的有效范围内，但光合作用的量子产率却急剧下降，称为红降现象(图 6-9)。如果在引起红降的光照(如 700nm)的同时，在外加一个短波的光照(如 680nm)，则量子效率可以提高并且有增益，称之为双光增益(图 6-10)。红降和双光增益的现象说明了在光合系统中存在两个相互串联的光反应中心。

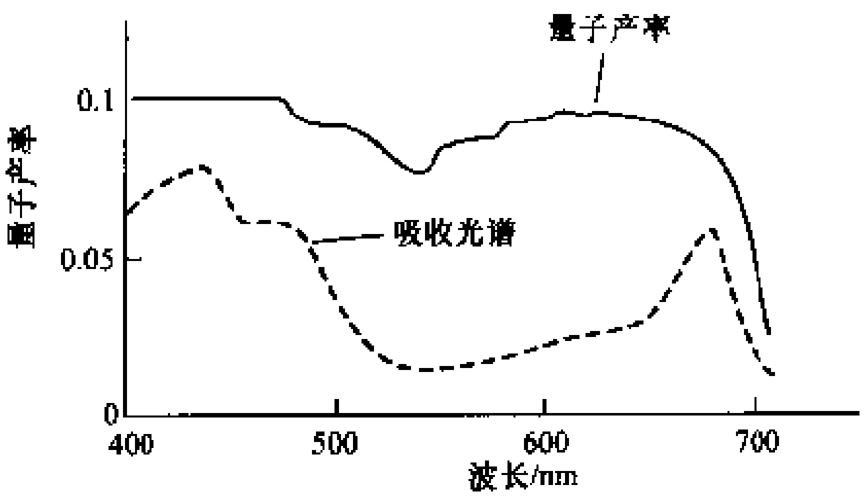



图 6-9　光合作用光反应的红降效应

(Taiz & Zeiger　1998)

在波长大于 680nm 的远红光区，量子产额急剧下降，表明远红光单独不能有效地驱动光合作用。500nm 附近量子产额的下跌是由于对辅助色素吸收的光的利用效率较低所引起。

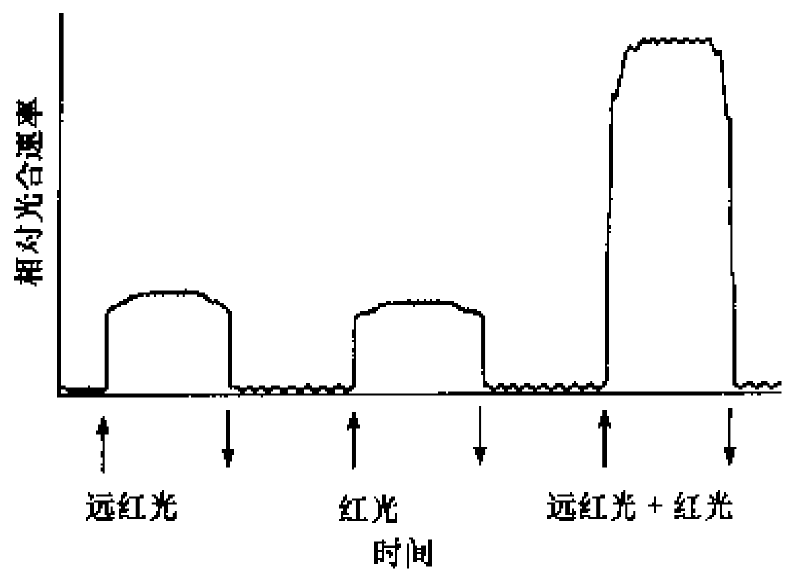



图 6-10　光合作用的双光增益效应

(Taiz & Zeiger　1998)

红光和远红光同时照射，比较两种光分别进行照射对光合速率有增益的效应。向上和向下的箭头分别表示光照的开和关。

现在已经明确，在利用水作为光合作用原料的植物，例如高等植物的电子传递的过程中有两个光反应系统，即 PSII 和 PSI。这两个光反应系统具有一些共同的特点，例如它们核心都是由两条对称的多肽组成，它们都利用“特殊对”的叶绿素分子作为中心色素分子或原初电子供体，它们的原初电子受体是一个叶绿素或去镁叶绿素分子，等等，说明这两个光反应中心可能具有共同的进化来源。但是这两个光反应中心也有一些完全不同的特点，它们具有不同的最终电子受体，PSII 的最终电子受体是质醌，而 PSI 的最终电子受体是铁氧还蛋白(ferredoxin)。因此可以将它们分为两类光反应中心：I 型光反应中心和 II 型光反应中心。在喜氧的蓝菌(cyanobacteria)和藻类、高等植物中，同时含有这两类反应中心，光系统 I 为 I 型；光系统 II 为 II 型。这两个反应中心串接起来，氧化水和形成低氧化还原电位用于还原 $NADP^+$。$NADP^+$ 和 ATP 用于还原 $CO_2$产生有机物。II 型产生氧化电位分裂氧，I 型则

利用 II 型产生的电子还原 $NADP^+$。

在类囊体一节中，我们已经说明光系统 I 和光系统 II 在类囊体上的分布在空间上是分离的。由于这种空间分离的现象，在两个光系统间必须有电子传递体的扩散使电子得以在两个光系统间进行传递，此外，两个光系统间并不需要一一对应的关系，完成 PS II 和 PS I 间电子传递的是共同的质醌库，PS II 和 PS I 分别向质醌库传递电子或取得电子，PS II 将电子传递给质醌使质醌还原，而 PS I 从质醌库取得电子使质醌氧化。事实上，在叶绿体中光系统 II 的数量往往多于光系统 I，在许多情况下，PS II∶PS I 的比率大约为 1.5∶1。这种比率关系常随环境的光条件而变化。蓝细菌(cyanobacteria)和 $C_4$ 植物的维管束鞘细胞的叶绿体中 PS I 的数量则远多于 PS II。

根据对一些厌氧的光合细菌的研究发现，I 型和 II 型分别分布在两类厌氧的光合细菌中。对这些细菌中光反应中心的研究使我们对光合作用反应中心的认识有了突破性的进展。

## (二) II 型光反应中心

硫或非硫的紫色光合细菌以及某些绿色细菌(chloroflexus)含有 II 型光反应中心。II 型光反应中心的特征是以醌作为电子的最终受体，又称醌型反应中心。

紫色细菌(*Rhodopseudomonas viridis*)的光反应中心是 II 型光反应中心。20 世纪 60 年代末，Reed 和 Clayton 从紫色光合细菌中纯化出光合反应中心复合体，经过近二十年的努力，直到 80 年代中期，三位德国科学家 Hartmut Michel、Johann Deisenhofer 和 Robert Huber 才成功地得到了紫色光合细菌反应中心色素蛋白复合体的三维晶体，并利用 X 射线衍射分析方法首次在原子水平上确定了其三维空间结构。这一成就是光合作用研究的一个里程碑，是首次对膜整合蛋白以及光反应中心的高分辨率结构分析，他们因此获得 1988 年诺贝尔奖。

紫色光合细菌的光反应中心的蛋白部分包括四条多肽链亚基(图 6-11A)。其中两个蛋白亚基称为 L(light)和 M(medium)亚基，反应中心的电子传递体细菌叶绿素对 $(BChl)_2$、细菌叶绿素 $BChl_L$ 和 $BChl_M$、细菌脱镁叶绿素 $BPh_L$ 和 $BPh_M$、质醌 $Q_A$ 和 $Q_B$ 等都在这两个多肽链上。L 和 M 亚基各自具有

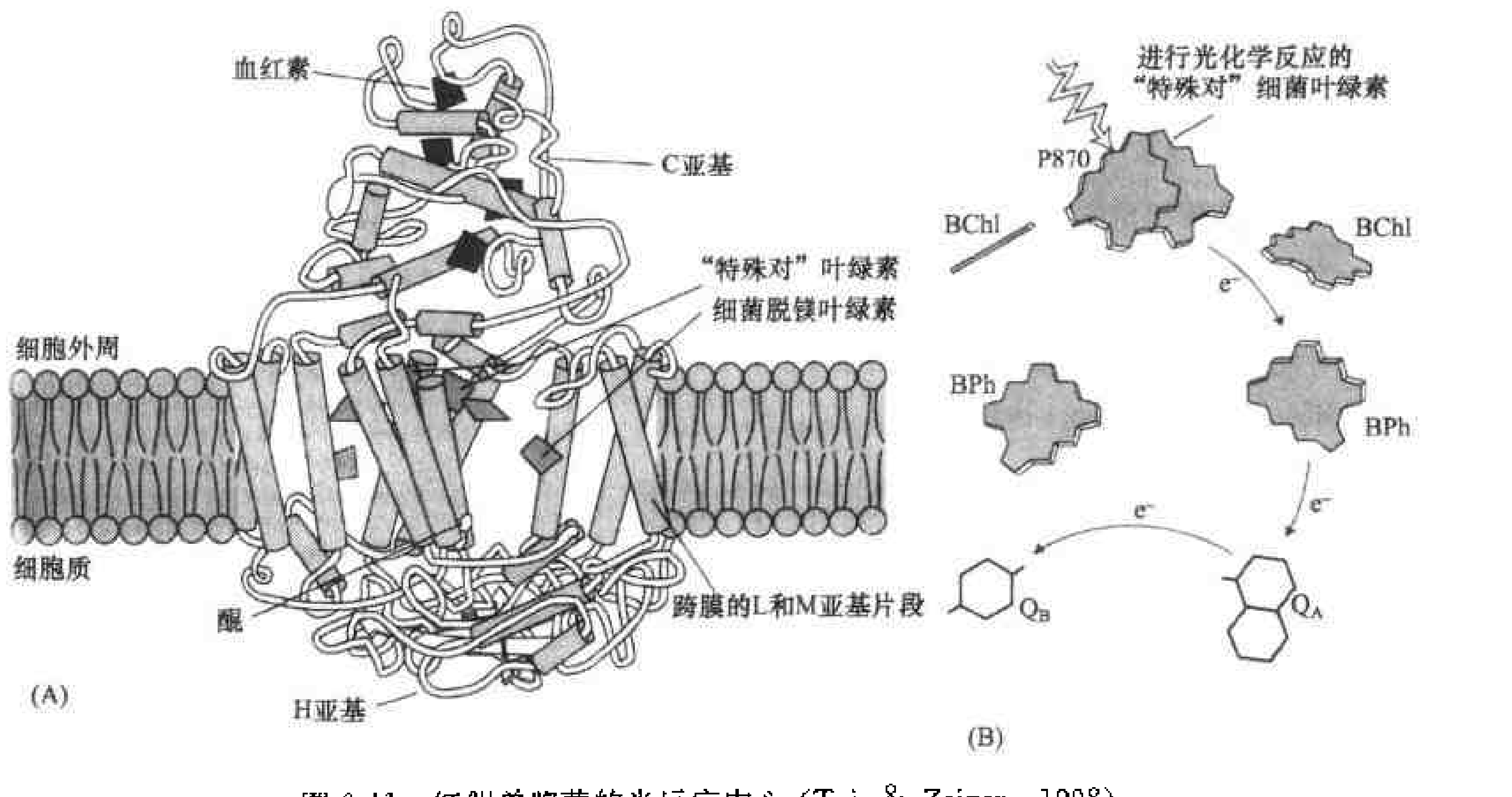



图 6-11 红假单胞菌的光反应中心 (Taiz & Zeiger 1998)

膜中的 11 个管状物代表穿越膜的蛋白质螺旋，方块代表叶绿素类的色素。膜外的方块代表血红素。叶绿素 a 中的 2 个分子形成"特殊对"，它是光活性部分。电子从特殊对开始，依次传递到去镁叶绿素和醌。(A)红假单胞菌光反应中心结构的示意图；(B)红假单胞菌的光反应中心的电子传递。

5 个跨膜的螺旋，相对于膜的中层面具有双重的对称性，而且有相同的电子传递体。尽管有这样的对称性，电子从$(BChl)_2$通过 $Q_A$传递到 $Q_B$的过程仍然只在 L 亚基上进行。用目前流行的电子传递理论还很难解释这个细菌反应中心的特性，特别是为何优先使用 L 亚基。第三个亚基是 H(heavy)亚基，具有一个跨膜的片段，主要位于细胞质的一侧。第四个亚基是 C(cytochrome)亚基，位于膜周(periplasmic)一侧。

紫色光合细菌的光反应中心的原初的电子供体 $P_D$是一对细菌叶绿素$(BChl)_2$，称为特殊对(special pair)叶绿素(图 6-11B)。这是光反应中心进行光化学反应的部位。目前一般认为在所有的光合反应中心都是利用这样的特殊对叶绿素进行光和化学能的转换。

由于高等植物光合系统 PSII 中电子传递反应与紫色细菌反应中心中的是类似的，因此高等植物光合作用的研究受益非浅。高等植物光反应中心 PSII 中是两个亚基 D 1和 D 2组成的异构的光反应中心，这两个亚基与 L 亚基和 M 亚基具有很高的同源性。PSII 的原初电子供体，氧化态 P680 是一个很强的氧化物，它的氧化还原电位为 + 1.1V(在细菌中仅约 + 0.4V)，因而可以从水中获取电子，它是生物体中发现的最强的氧化体。P680 也是叶绿素 a 的“特殊对”，但是色素的相对排列似乎与紫色细菌中原初供体$(BChl)_2$的不同，而且激子偶联的程度也较弱。在还原的一边，PSII 与厌氧紫色细菌系统相同，它们都具有脱镁叶绿素和质醌 $Q_A$、$Q_B$作为电子受体。虽然在这两个光反应系统中的这些辅助因子的化学结构并不相同，但是它们具有基本相同的氧化还原电位以及相同的电子传递比率常数。正是这些相似性将 PSII 和紫色细菌的光反应中心归类为 II 型光反应中心。

### (三) I 型光反应中心

绿硫光合细菌和阳生光合细菌(heliobacteria)含 I 型光反应中心。I 型光反应中心的特征是以具有低氧化还原电位的铁-硫中心作为电子的最终受体，又称铁硫型反应中心。

I 型光反应中心的原初电子传递过程在很多方面是与 II 型系统中相似的。原初的电子供体仍然是一对特殊的叶绿素。但是与 II 型反应中心不同，需氧和厌氧系统在这里产生的氧化还原电位都大约为 0.4V。第一个受体可能是一个单体叶绿素，接下来的电子传递体是一个质醌分子。与 II 型反应中心不同，这个质醌是还原态的并且质子化，它具有很低的氧化还原电位，因此可以将电子提供给最终的电子受体，这个最终电子受体是 4Fe-4S 中心。所有在 I 型系统中的这些活跃的氧化还原辅助因子都结合于两个相似或完全相同的蛋白，这两个蛋白形成与 II 型反应中心类似的具有双重对称性的二聚体。可是，I 型和 II 型蛋白二聚体具有显著的不同，即 I 型二聚体结合了大量的集光叶绿素。低氧化还原电位($E_m = -0.7$)的 4Fe-4S 中心则通过另外的铁-硫中心以还原 $NAD^+$ 和 $NADP^+$，这些铁-硫中心是与反应中心二聚体的外表而相联系的蛋白结合的。

PSI 反应中心也具有一个通过 P700 和 4Fe-4S 中心的双重对称的轴。

## 三、电子传递链

光合作用的光反应过程的基本上是在四个蛋白复合体上进行的，即 PSII、$Cytb_6f$、PSI 和 ATP 合成酶。如前所述，在高等植物的光合作用体系中有两个光反应系统，即光系统 I 和光系统 II，这两个反应中心通过光能形成电荷分离，推动电子的传递，这两个光反应系统串接起来，从水中夺取电子(形成质子并放出氧气)并通过一系列的电子传递体将电子传递到 $NADP^+$ 使其还原形成 NADPH，在电子传递的同时形成跨类囊体膜的 pH 梯度，用于 ATP 的合成。NADPH 和 ATP 用于还原 $CO_2$产生有机物的过程。因此，电子传递链是光合作用形成同化力的核心环节。

根据电子的传递顺序和其半氧还电位作图，所得图形如图 6-12 所示，称之为光合作用电子传递的 Z 链(Z scheme)。Z 链是光合作用中电子传递的主要途径。

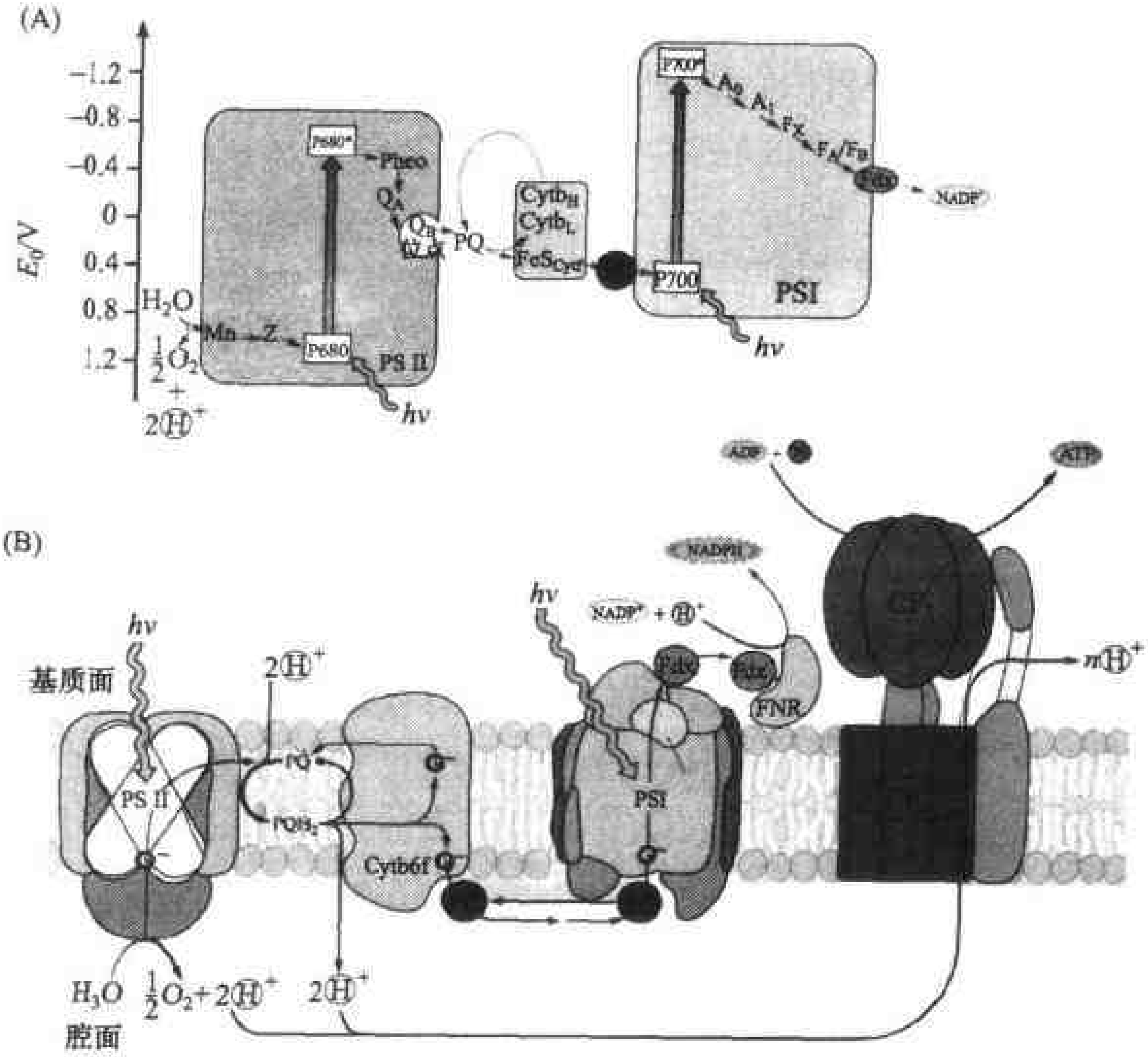



图 6-12　光合作用光反应 Z 链电子传递示意图（Buchanan et al. 2000）
（A）Z 链电子传递体的氧还电位示意图；（B）Z 链上蛋白复合体在类囊体膜上的分布及电子传递示意图。

## （一）电子传递链的组成

光合作用电子链的重要特性是它们大都结合在特定的蛋白复合体上，这些蛋白复合体包括光系统 I、细胞色素复合体 $Cytb_6f$ 和光系统 II，在光系统 I 和细胞色素复合体 $Cytb_6f$ 间有质醌在其间传递电子，而在细胞色素复合体 $Cytb_6f$ 和光系统 II 之间则有质蓝素进行电子的传递。

**1. 光系统 II 复合体**

光合电子传递链上的第一个蛋白复合体是光系统 II。光系统 II 是多亚基的蛋白复合体（图 6-13），它利用光能推动一系列的电子传递反应，导致水裂解为氧和质子，释放出氧气，并将电子传到质醌(PQ)。光系统 II 推动的反应可以表示为：

$$2H_2O + 2PQ \xrightarrow{\text{光}+PSII} O_2 + 2PQH_2 \quad (6.7)$$

（1）光系统 II 复合体的组成和结构　　PSII 复合体结合有许多色素分子，包括大约 250 个叶绿素（叶绿素 a 和 b）以及 β-胡萝卜素、叶黄素(lutein)、新黄素(neoxanthin)和紫黄质(violoxantin)。

组成高等植物和藻类的完整光系统 II 的蛋白复合体的多肽有 20 余种。这些多肽包括 PSII 的天线蛋白、PSII 反应中心蛋白、与水的裂解和氧气形成相关的蛋白质以及维持该复合体所必需的蛋白质等（表 6-3）。

PSII 反应中心或称 PSII 核心(core)是指 PSII 复合体上与光化学反应和电子传递直接相关的蛋白多肽，进行光化学反应的特殊对叶绿素和各种电子传递体都结合在这些蛋白多肽上。目前认为，高等植物 PSII 反应中心蛋白组成为：D1、D2、细胞色素 $b_{559}$（具 α 和 β 亚基）以及 psbI 基因产物等五种多肽。D1 和 D2（分子质量 32kDa 和 34kDa）具有类似于紫色光合细菌的光反应中心的 L 亚基和 M 亚

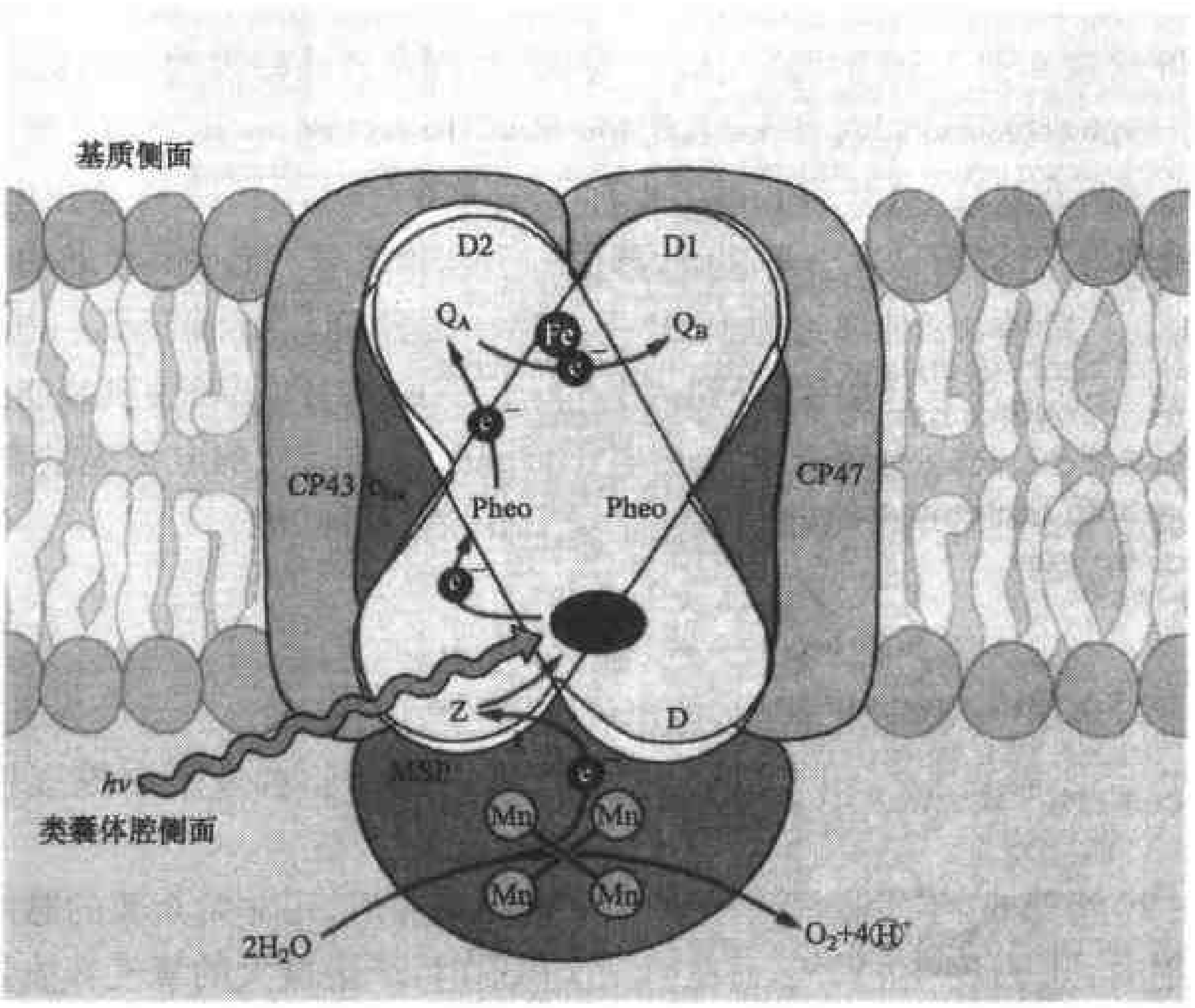



图 6-13 光系统 II(PSII)复合体结构 (Buchanan et al. 2000)

基的构型，呈双重对称性，电子传递体主要结合在这两条多肽上。

**表 6-3 光系统 PSII 核心复合体的蛋白亚基**

| 蛋白多肽 | 基因 | 基因的位置 | 分子质量/kDa | 功能 |
|---|---|---|---|---|
| 疏水多肽 | | | | |
| D1 | *psbA* | 叶绿体 | 32 | 反应中心多肽 |
| D2 | *psbB* | 叶绿体 | 34 | 反应中心多肽 |
| CP47 | *psbC* | 叶绿体 | 51 | 结合天线色素 |
| CP43 | *psbD* | 叶绿体 | 43 | 结合天线色素 |
| 细胞色素 $b_{559}$ | | | | |
| 亚基 | *psbE* | 叶绿体 | 9 | 未知 |
| 亚基 | *psbF* | 叶绿体 | 4 | 未知 |
| PsbH～PsbN | *psbH*～*psbN* | 叶绿体 | 3.8～10 | 未知 |
| 22kDa | *psbS* | 细胞核 | 22 | 光保护 |
| 亲水多肽 | | | | |
| 33kDa | *psbO* | 细胞核 | 33 | 放氧 |
| 23kDa | *psbP* | 细胞核 | 23 | 放氧 |
| 17kDa | *psbQ* | 细胞核 | 17 | 放氧 |
| 10kDa | *psbR* | 细胞核 | 10 | 未知 |

光系统 II 复合体具有自身的天线蛋白，如 CP29 和 CP24，它们结合在光系统 II 复合体上成为该复合体的内天线。一些蛋白多肽涉及水的裂解和氧气的形成，将在以下进行详细的介绍。另有一些蛋白多肽的功能目前尚不明了，但除去这些多肽后不能形成稳定的光系统 II 复合体结构，因此这些蛋白可能在稳定光系统 II 复合体的结构方面有重要作用。

光系统 II 复合体在体内主要以二聚体的形式存在，并且结合外天线(如 LHC II)形成超级复合体。

(2) PSII 上的电子传递　在 PSII 反应中心上电子的传递过程是：

$D1\text{-}161Tyr \rightarrow P680^{+}$；　　$P680^{*} \rightarrow Pheo \rightarrow Q_A \rightarrow Q_B$

P680为特殊对叶绿素a，是PSII的反应中心色素，其吸收光谱的峰值为680，因此称为P680。当P680被激发，将电子传递给脱镁叶绿素(Pheo)，形成$P680^{+}Pheo^{-}$对，一旦$P680^{+}$产生，就会从D1蛋白亚基上161位的酪氨酸残基(D1-161Tyr，过去也称Z)夺取电子，D1-161Tyr给出电子后又通过Mn聚集体从水分子中得到电子，同时使水分子裂解，形成分子氧和质子。而$Pheo^{-}$将电子传递给牢固结合于D2的质醌$Q_A$，$Q_A^{-}$又将电子传递给位于D1上的另一质醌$Q_B$。$Q_B$得到第一电子后仍然停留在PSII复合体上，直到下一次电子传递发生，得到两个电子后形成$PQH_2$并释放到膜脂中。

(3) 水的氧化的过程　水分子是光合作用电子传递过程的最初的电子提供者，PSII通过氧化水而获得电子。从水分子中夺取电子或者说氧化水是PSII的重要功能。

水的氧化可由下式表示：

$$2H_2O \longrightarrow O_2 + 4H^{+} + 4e \qquad (6.8)$$

在水氧化的化学过程中，水被氧化、裂解，放出氧气，需要2分子的水产生1分子的氧气，其中有4个电子的传递，因此PSII需要积累四个氧化等量物以便从两个水分子中提取四个还原等量物($4e/4H^{+}$)来产生一个氧气分子。

Pierre Joliot在20世纪60年代观察到，当适应了黑暗条件后，用非常短暂的脉冲强光照射，发现在第一和第二次照射时，几乎不产生氧气，而在第三次照射时，产生最大的氧气释放量，之后的照射都产生氧气并逐渐达到稳定的氧气释放量(图6-14A)。之后，Kok等提出水氧化的S态转换机制(S state mechanism)，得到广泛的接受。

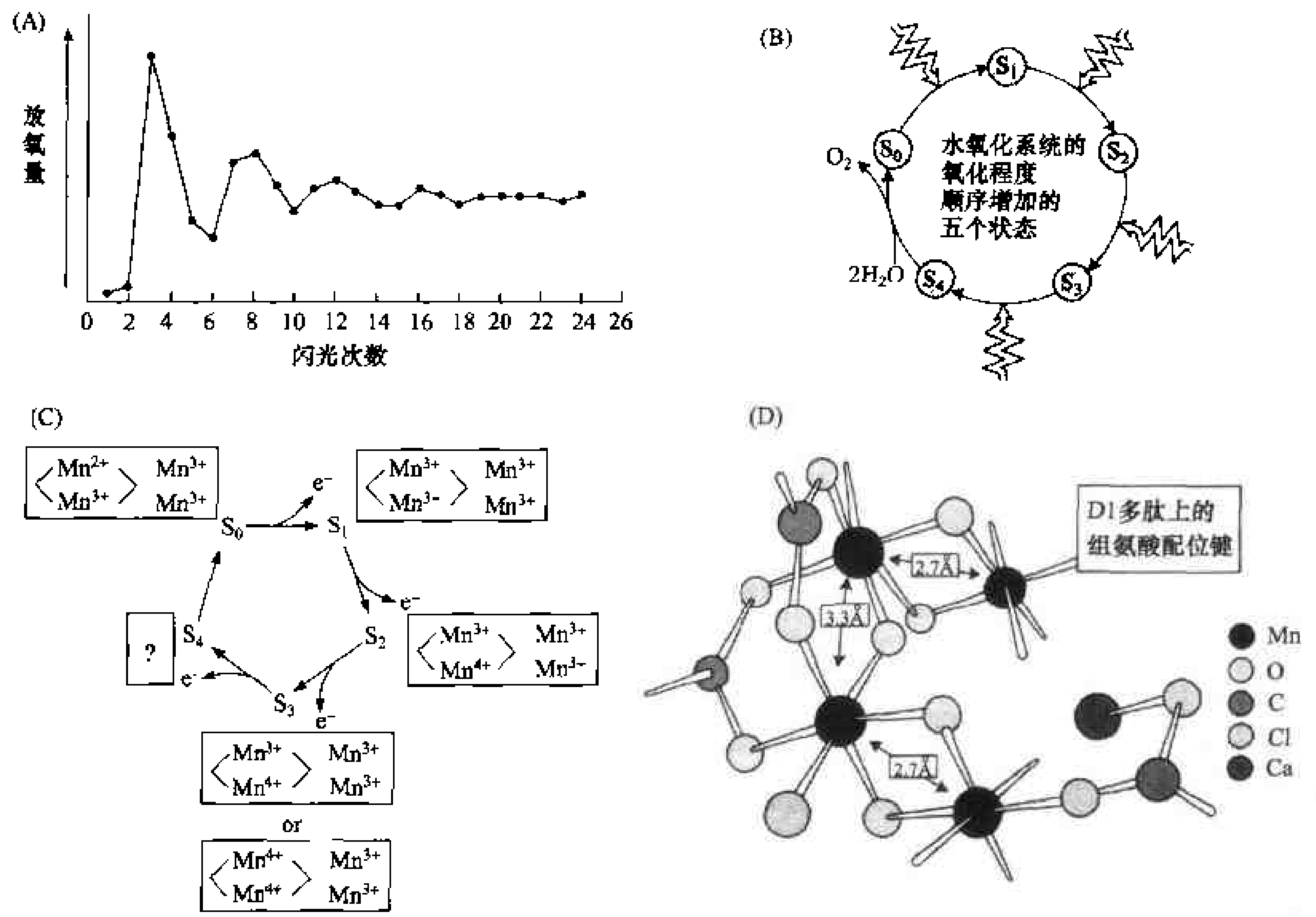



图6-14　光系统II的放氧机制(Taiz & Zeiger　1998)

(A)植物放氧量与闪光次数的关系；(B)放氧过程的S状态模型；(C)不同S状态所对应的锰聚集体氧化状态；(D)锰聚集体与Cl、Ca和O的结构关系。

S状态转换机制认为：水的氧化是在称为放氧复合体(oxygen-evolving complex)的系统中进行的。在水的氧化过程中水的氧化系统存在 $S_0$ 到 $S_4$ 等状态，依次代表较高的氧化状态。它们可以被光照所驱动，由一个状态向另一顺序地进行转换。当达到状态 $S_4$ 时，系统就会放出氧气并回到状态 $S_0$(无需光输入)，这个过程称为 $S_0$-$S_4$ 循环(图 6-14B)。状态 $S_4$ 是不稳定的，只是短暂存在的暂态，而在黑暗中，状态 $S_2$ 和 $S_3$ 也会发生衰变而回到状态 $S_1$，因此在暗中水氧化系统大约有 3/4 处于状态 $S_1$ 而 1/4 处于状态 $S_0$。这就是为什么在适应黑暗后，需要两次光脉冲达到最高放氧量。此外，每次光脉冲后，有些放氧复合体会发生两次状态的转换，而有些放氧复合体可能不发生状态的转换，在若干次照射后，放氧复合体可能处于各种不同的状态，因此照射所引起的放氧量逐渐达到稳定的状态。

水的裂解所引起的质子释放似乎并不是与氧的释放直接偶联。氧的释放发生在状态循环的最后一步，而质子的释放可能是在氧释放之前，质子可能并非来源于水的部分氧化，而可能是来自放氧复合体上蛋白质的某些可离子化的氨基酸集团。由于放氧复合体位于类囊体的囊腔一侧，因此水氧化所释放的质子将直接进入类囊体腔。这也是形成跨类囊体膜 pH 梯度的重要因素。

锰是水氧化所必不可少的元素。目前的理论认为，S 状态的转换代表着锰原子的不同的氧化状态。这个过程包括由四个锰原子组成的聚集体，称为锰聚集体(Mn cluster)。这些锰原子被四个独立的光化学反应依次转化为高价的状态，每一次 P680 被光激发从 D1-161Tyr 得到一个电子，锰聚集体就会转变到一个新的氧化状态，直到氧气的放出，锰聚集体又回到原初的状态。这样就形成锰聚集体氧化状态的循环(图 6-14C)。Mn 聚集体在类囊体的腔面可能与D1蛋白紧密地连接在一起。此外，实验表明 $Ca^{2+}$ 和 $Cl^-$ 也是水的氧化过程所必需的，但是这些离子在放氧过程中的具体作用目前还不清楚(图 6-14D)。

在 PSII 蛋白复合体的腔面有一个由三条分子质量分别为 16kDa、23kDa、33kDa 的多肽链所组成的复合体帽结构，它们对于水分子的氧化是需要的。用实验去除它们，水的氧化就会被抑制，重组后又可恢复，因此这个蛋白结构加上 Mn 聚集体，合称为放氧复合体(oxygen-evolving complex, OEC)。这三条肽链的功能可以是结合 $Ca^{2+}$ 和 $Cl^-$，同时保护 Mn 聚集体免受外部还原剂的影响。33kDa 多肽可能起稳定 Mn 聚集体的作用。

**2. 细胞色素 $b_6f$ 复合体**

细胞色素 $b_6f$ 复合体在 PSII 和 PSI 光反应复合体间进行电子的传递，催化还原态的质醌($PQH_2$)的氧化和质体蓝(PC)的还原；并与此偶联地把质子从类囊体的基质转移到类囊体腔，建立起跨膜的 pH 梯度，形成合成 ATP 的动力；此外，它还有调节 PSII 和 PSI 间能量分配以及 NADPH 和 ATP 比例的功能。

(1) *光反应系统复合体和细胞色素 $b_6f$ 复合体间的电子载体*　细胞色素 $b_6f$ 复合体在光合电子传递过程中，并不直接地从 PSII 接受或向 PSI 提供电子。在细胞色素 $b_6f$ 复合体与 PSII 和 PSI 间的电子传递是通过一些可扩散的电子载体进行的。

在 PSII 和细胞色素 $b_6f$ 复合体之间的电子载体是质醌(plastoquinone, PQ)。质醌是脂溶性分子，在膜脂中进行扩散运动，质醌有氧化态(PQ)、还原态($PQH_2$)和半醌($PQ^-$)等几种状态(图 6-15)。一分子 $PQH_2$ 可携带 2 个电子和 2 个质子。质醌是类囊体膜上最丰富的电子载体，与 PSII 有很高的比率(不同说法，有 40∶1；也有 8∶1)，因此也称之为质醌库(PQ pool)。质醌不仅传递电子，而且在质子跨膜形成质子梯度中起重要作用。

在细胞色素 $b_6f$ 和 PSI 之间的电子载体是质蓝素(plastocyanin, PC)，也有称质体蓝的。质蓝素是水溶性的蛋白质，分子质量 40kDa，由 4 条多肽组成，每条多肽上含有 1 个铜原子，结合在组氨酸残基上，还有 2 个硫原子结合于胱氨酸残基上。氧化态的 PC 是蓝色的。可以携带 1 个电子并传递给 PSI。质蓝素的电子传递可以被 $HgCl_2$ 所抑制(阻塞—SH 基，阻止电子向 PSI 传递)。质蓝素存在于

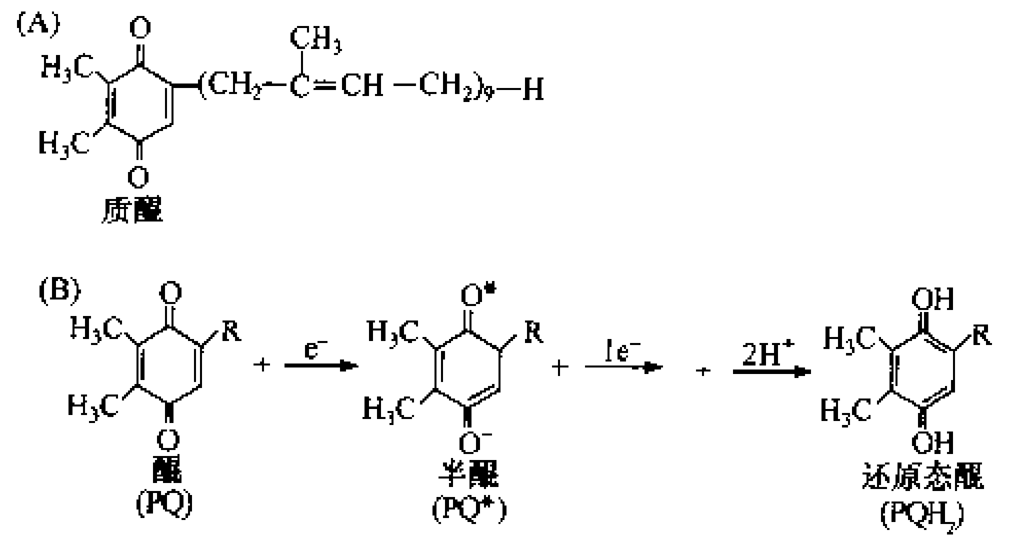



图 6-15 质醌结构及醌的不同氧化状态（Taiz & Zeiger 1998）

类囊体腔内。由于质蓝素是由核基因编码的蛋白质，必须经叶绿体膜和类囊体膜两个膜系统才能进入类囊体囊腔。

如前所述，光反应系统 PSII 和 PSI 在类囊体膜上的分布在空间上是分离的，因此在两者间的电子传递必然涉及电子传递体的扩散。细胞色素 $b_6f$ 复合体是较大的蛋白复合体，难以在膜脂中迅速扩散，因此完成这种电子传递中的蛋白复合体间扩散过程的主要是质醌或质蓝素。

（2）**细胞色素 $b_6f$ 复合体的组成和结构**　细胞色素 $b_6f$ 复合体在植物体内以二聚体形式存在。细胞色素 $b_6f$ 复合体单体有 4 个主要亚基：细胞色素 f、细胞色素 $b_6$、Rieske 蛋白和亚基 IV（表 6-4）。

**表 6-4 细胞色素 $b_6f$ 复合体的多肽亚基**

| 蛋白多肽 | 基因 | 基因的位置 | 分子质量/kDa | 功能 |
|---|---|---|---|---|
| Cyt f | *petA* | 叶绿体 | 32 | Cytf 脱辅基蛋白 |
| Cyt $b_6$ | *petB* | 叶绿体 | 24 | Cyt$b_6$脱辅基蛋白 |
| RFeS | *petC* | 细胞核 | 19 | Rieske 脱辅基蛋白 |
| 亚基 IV | *petD* | 叶绿体 | 17 | 质醌结合 |
| PetG, PetM | *petG*, *petM* | 细胞核 | 4.0 | 未知 |
| PetL | *petL* | 叶绿体 | 3.4 | 未知 |

细胞色素 f 含 1 个 c 型血红素，分子质量 33kDa，由叶绿体基因 *petA* 编码，含 285 个氨基酸。接近 C 端的 251～270 位氨基酸残基形成跨膜 α 螺旋；1～250 位氨基酸残基突出于囊腔中，其中 $C_{24}$ 和 $H_{25}$ 具有很高的遗传保守性，可能是 c 血红素的结合部位。

细胞色素 $b_6$ 含 2 个 $b_6$ 型血红素，分子质量 23kDa；由叶绿体基因 *petB* 编码，含 214 个氨基酸残基，有 4 个跨膜 α 螺旋（A、B、C、D），在 AB 跨膜 α 螺旋之间和 CD 跨膜 α 螺旋之间存在两个两性螺旋区，存在于类囊体膜的囊腔一侧。

Rieske 蛋白（RFe-S）含有 1 个 2Fe-2S 簇，分子质量 20kDa；Rieske 蛋白由核基因 *petC* 编码，含有 179 个氨基酸残基，可能具有 1～2 个跨膜 α 螺旋，也有推测可能无跨膜螺旋，而是一个附着在类囊体内表面，突出于囊腔中的外蛋白。Rieska 蛋白可能有两种，分子质量相同，但等电点不一样，分别为 5.1 和 5.4，因此在细胞色素 $b_6f$ 的二聚体中可能分别具有不同的 Rieske 蛋白。

亚基 IV 被认为是质体醌的结合蛋白，分子质量 17kDa，由叶绿体基因 *petD* 编码，含有 160 个氨基酸残基，有 3 个跨膜 α 螺旋，跨膜 α 螺旋间有 1 个两性螺旋区。亚基 IV 位于类囊体膜的囊腔一侧，可能是还原态质醌 $PQH_2$ 的结合部位，即 $Q_o$ 部位。在亚基 Cyt$b_6$ 和亚基 IV 的膜基质侧有许多保守的序列，推测是氧化态质醌（PQ）结合的部位，即 $Q_r$ 部位。

另外还有一些小分子质量亚基，其生理功能不明。

（3）**细胞色素 $b_6f$ 复合体上的电子传递**　在整个光合电子传递链中，PSII 与细胞色素 $b_6f$ 复合

体之间进行电子传递的是 $PQH_2$，而在细胞色素 $b_6f$ 复合体和 PSI 之间进行电子传递的是质体蓝(PC)。细胞色素 $b_6f$ 复合体可以看着是氧化还原酶类，它催化 $PQH_2$ 的氧化和 PC 的还原，即将电子从 $PQH_2$ 传递到 PC。值得注意所是，一分子质醌传递的是 2 分子的电子和 2 分子的质子，而 PC 只传递电子但并不传递质子，因此细胞色素 $b_6f$ 复合体在 $PQH_2$ 向 PC 传递电子的过程中，一部分自由能被细胞色素 $b_6f$ 复合体转变为质子的驱动力，把质子从类囊体外的基质中跨膜转移到类囊体的腔中，形成跨膜的质子梯度。

电子在细胞色素 $b_6f$ 复合体上的确切传递过程尚无定论。目前被广泛承认的标准模型是醌循环(Q 循环)模型(Q cycle)(图 6-16)。

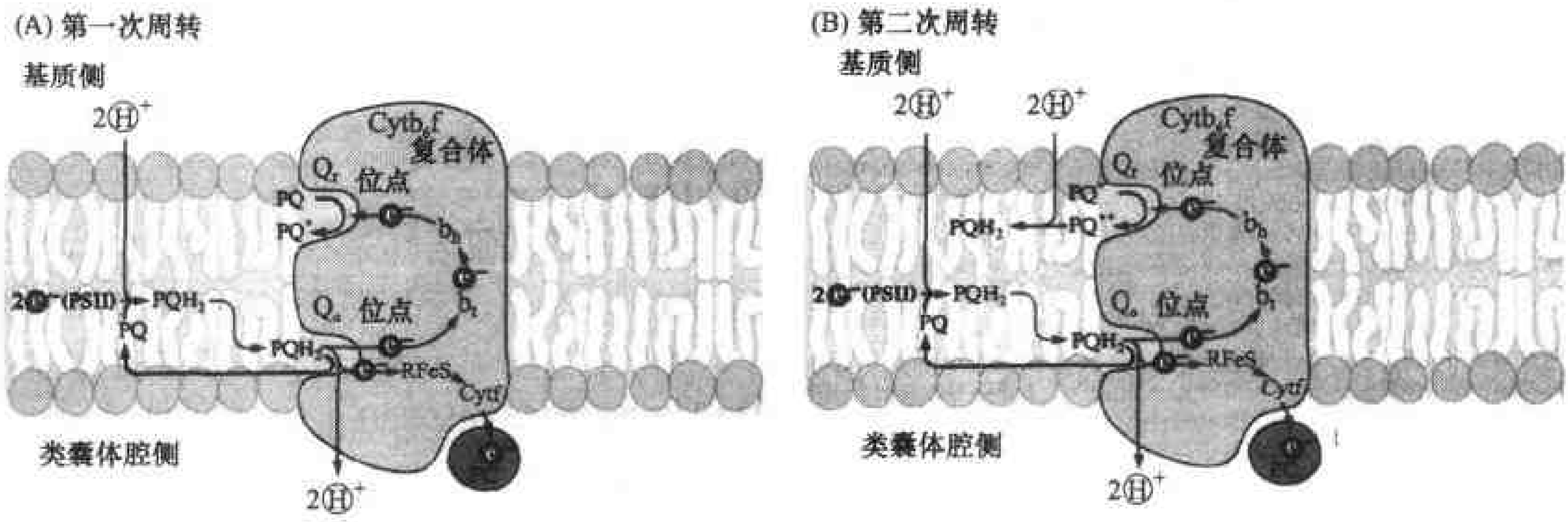



图 6-16　细胞色素 $b_6f$ 复合体的电子传递和质子跨膜转移的模型——质醌循环 (Buchanan et al. 2000)

细胞色素 $b_6f$ 复合体通过两次周转完成一次 Q 循环，传递两个电子并将 4 个质子从基质侧转运到类囊体的腔内。

Q 循环模型认为：在细胞色素 $b_6f$ 上有两个醌的结合部位：一个是还原态醌($PQH_2$)结合和氧化的部位，称为醌的氧化中心($Q_o$)；另一个是氧化态的醌(Q)结合和还原的部位，称为醌的还原中心($Q_r$)。$Q_o$ 位点在类囊体膜的囊腔一侧，而 $Q_r$ 位点在类囊体膜的基质一侧。此外，在细胞色素 $b_6f$ 复合体上的两个细胞色素 $b_6$ 有所不同，一个称低电位的 $b_6$ 或 $b_L$，与 $Q_o$ 位点在同侧；另一个称高电位的 $b_6$ 或 $b_H$，与 $Q_r$ 位点在同侧。当 $PQH_2$ 在 $Q_o$ 位点被氧化时，第一个电子经 $PQH_2 \rightarrow$ RFe-S $\rightarrow$ Cyt f $\rightarrow$ PC 途径(亦称高电位电子传递途径)进行传递，而它的第二个电子则经低电位电子传递途径传递，即 $PQH_2 \rightarrow$ Cyt b($b_L$) $\rightarrow$ 细胞色素 b ($b_H$)。$PQH_2$ 失去两个电子的同时，将两个质子释放到类囊体腔中，被氧化成 PQ。被还原的 $b_H^-$ 把 $Q_r$ 位点的 PQ 还原为半醌阴离子 $PQ^-$，在下一次 $PQH_2$ 电子传递时从基质获取 $H^+$，将 $PQ^-$ 还原为 $PQH_2$。这样，每 2 个 $PQH_2$ 在 $Q_o$ 位点氧化就会有 4 个电子进行传递，2 个经高电位电子传递途径将 PC 还原，另两个传递到 $PQ_r$ 位点产生 1 个 $PQH_2$，同时，向类囊体腔中释放 4 个质子，从基质吸收 2 个质子。这就是一个 Q 循环，其总的效果是：氧化 1 分子 $PQH_2$ 为 PQ，向前传递 2 个电子，跨膜运转 4 个质子。

但是细胞色素 $b_6f$ 复合体上的两个细胞色素 $b_6$ 的氧还电位相近，因此彼此间难以进行电子传递，同时，虽然有证据说明存在细胞色素 $b_6f$ 复合体的 $Q_o$ 位点，但却找不到 $Q_r$ 位点。为了解决细胞色素 $b_6$ 间无法进行电子传递的问题，因此提出半醌循环模型。半醌循环模型和醌循环模型与醌循环模型的不同之处在于：虽然在半醌模型中第一个电子的传递途径与醌循环模型中的高电位电子传递途径相同，但第二个电子的传递在半醌模型中作为电子载体的是 $PQ^-$ 而不是细胞色素 b。$PQH_2$ 在失去第一个电子后，释放 $2H^+$，成为 $PQ^-$，扩散跨膜到基质一侧，将电子传给 $b_H$。这样就避免了细胞色素 $b_6$ 的电子传递问题。但半醌模型仍不能解释 $Q_r$ 位点的问题，因此有关细胞色素 $b_6f$ 复合体的电子传递问题仍有待探索。

**3. 光系统Ⅰ复合体(PSⅠ)**

光系统Ⅰ从质蓝素接受电子，利用光能推动电子传递，最终将电子传递到铁氧还蛋白。从这个角度看，可以把 PSI 作为一个氧还酶系，氧化 PC 还原铁氧还蛋白，因此亦可以称为 PC:铁氧还蛋白氧化还原酶系。

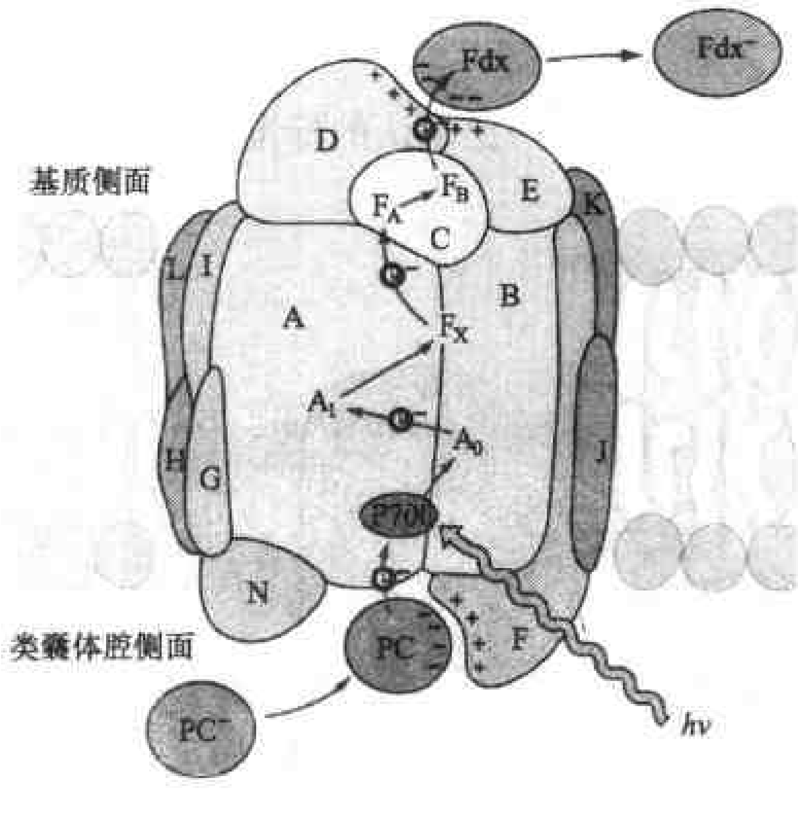



图 6-17 光系统Ⅰ(PSI)复合体结构示意图
(Buchanan et al. 2000)

(1) 光系统Ⅰ的组成和结构 PSⅠ含有 11～13 种多肽、100 个左右的叶绿素 a、几个胡萝卜素、2 个维生素 $K_1$(叶醌)和三个 4Fe-4S 中心。绿藻和高等植物还含有内天线捕光色素蛋白复合体Ⅰ(LHCI)，约含有 100 个左右叶绿素分子，故此把 PSI(＋LHCI)也称为 PSI-200。因此，对于高等植物和藻类来说，光系统Ⅰ复合体包括了光系统Ⅰ核复合体(core complex)和内天线 LHCI。

光系统Ⅰ的核复合体是有多条蛋白多肽亚基组成的(表 6-5)。PsaA、PsaB 和 PsaC 三条多肽链组成反应中心多肽。在反应中心之外，PSI 复合体还有许多种蛋白多肽，这些蛋白的功能目前大部分还不十分了解，根据它们在类囊体膜上的位置，可以分为内在蛋白(intrinsic protein)和外在蛋白(extrinsic protein)，外在蛋白又可分为 基质面外蛋白(extrinsic stromal protein)和腔面蛋白(lumenal protein)(图 6-17)。

**表 6-5 光系统 PSI 核心复合体的蛋白亚基**

| 蛋白多肽 | 基因 | 基因的位置 | 分子质量/kDa | 功能 |
|---|---|---|---|---|
| 疏水多肽 | | | | |
| PsaA | *psaA* | 叶绿体 | 83 | 反应中心多肽 |
| PsaB | *psaB* | 叶绿体 | 82 | 反应中心多肽 |
| PsaG | *psaG* | 细胞核 | 11 | 未知 |
| PsaI | *psaI* | 叶绿体 | 4 | 未知 |
| PsaJ，PsaM | *PsaJ*，*psaM* | 叶绿体 | 5，3.5 | 未知 |
| PsaK，PsaL | *PsaK*，*psaL* | 细胞核 | 8.4，18 | 未知 |
| 亲水多肽 | | | | |
| 基质面 | | | | |
| PsaC | *psaC* | 叶绿体 | 9 | Fe-S 脱辅基蛋白 |
| PsaD | *psaD* | 细胞核 | 18 | 结合铁氧还蛋白 |
| PsaE | *psaE* | 细胞核 | 10 | 循环电子传递 |
| PsaH | *psaH* | 细胞核 | 10 | LHC-I 的连接 |
| 腔面 | | | | |
| PsaF | *psaF* | 细胞核 | 17 | 结合质蓝素 |
| PsaN | *psaN* | 细胞核 | 10 | 未知 |

目前普遍认为，所有的与电子传递有关的有机或无机因子都是结合在三条多肽链上，即由 *psaA*、*psaB* 和 *psaC* 基因所编码的 PsaA、PsaB 和 PsaC。PsaA 和 PsaB 是 PSI 光反应中心的基本多肽结构。它们组成跨膜的对称异二聚体结构，除 $F_A/F_B$外，所有电子载体都结合在这个异二聚体上。PsaA 和 PsaB 的分子质量为 82～83kDa，PsaA 具有 750 左右氨基酸残基，PsaB 具有 730 左右氨基酸残基，两者 45%左右相同。蓝细菌的与真核生物的有 95%以上的同源性。PsaA 和 PsaB 由叶绿体基因编码，

属同一操纵子，同时转录。PsaA 和 B 也是色素结合的场所。几乎所有 PSI 核复合体上的叶绿素 a 都与该二聚体结合，此外还有β-胡萝卜素。PsaC 位于基质面，分子质量 8.9kDa，含 80 个氨基酸残基，由叶绿体基因编码，高度保守(高等植物间的同源性大于 95%)，是 $F_A/F_B$的结合场所，都具有两个相同的结构域 CXXCXXCXXXCP，提供 $F_A$和 $F_B$铁硫中心的配位基。

PsaF 是惟一已知位于类囊体腔面的蛋白质。PsaF 为核基因编码蛋白，分子质量约 17kDa。PsaF 有 6 个重要的亲水区域，富含赖氨酸。PsaF 的主要功能是参与质蓝素与 PSI 的结合和电子传递。PsaD是位于基质面的多肽，为核基因编码蛋白，分子质量约 15kDa，它的功能是为铁氧还蛋白 Fd 结合提供位点。PsaE 也是位于基质面的多肽，它可能与循环电子传递和 Fd 的结合有关。

PSI 含有一些低分子质量的位于类囊体膜内的蛋白，它们可能有一些共同的功能，如稳定或促进蛋白复合体和膜脂间的相互作用。

(2) 光系统 I 复合体上的电子传递　PSI 复合体上的电子传递的途径是：$P700 \rightarrow A_0 \rightarrow A_1 \rightarrow F_X \rightarrow F_A/F_B$。PSI 从 PC 接受电子并把电子传递给 Fd。

P700 是 PSI 的原初电子供体，目前一般认为是一对叶绿素 a 分子，其吸收光谱的峰值为 680，因此称为 P700。P700 的氧还电位为+430mV，受激发的 $P700^*$ 的氧还电位为-1200mV，是生物界氧还电位最低的分子之一。$A_0$是一个叶绿素 a 分子，与 P700 的距离不到 20Å。$A_0$的还原状态(接受电子后)极不稳定，或者将电子传递给 $A_1$，或者与 P700 形成电荷结合。$A_1$是次级电子受体，为两个叶醌分子。但是在电子传递过程中似乎只有一个叶醌是必需的，在抽提实验中，当抽提去除一个叶醌后，电子从 P700 到 Fd 的传递依然可以进行。$F_X$是 PSI 中三个铁硫中心之一。$F_X$为 4Fe-4S 中心，由 4 个半胱氨酸残基提供配位键。$F_X$位于 PsaA 和 PsaB 之间，所需的配位键可能由 PsaA 和 PsaB 共同提供。

$F_A/F_B$的电子传递仍不明确。从氧还电位看，电子的传递顺序似乎是：$F_X \rightarrow F_B$(-580mV)$\rightarrow F_A$(-520mV)$\rightarrow$Fd。但是 $HgCl_2$处理后，$F_B$被选择性失活，因为 $HgCl_2$可能与表面的 Fe-S 中心作用，因此，$F_B$可能位于复合体的表面，而与 $F_X$远一些，电子传递的顺序似乎可能是 $F_X \rightarrow F_A \rightarrow F_B \rightarrow$Fd。因此目前对电子在 $F_A$和 $F_B$间的传递顺序问题还不明确。因此常将两者合称 $F_A/F_B$。

**4. 铁氧还蛋白**

铁氧还蛋白(Ferredoxin，Fd)，分子质量 17kDa 左右，具有 2Fe-2S 族。

铁氧还蛋白 20 世纪 60 年代初被发现时曾引起巨大的反响，因为它是在吡啶核苷酸、黄素蛋白(flavoprotein)、血红素蛋白(hemoprotein)之外所发现的又一类新的电子载体。

铁氧还蛋白为可溶性电子载体，在 PSI 还原后，可以将电子用于多种生物还原过程，如还原硝酸、亚硝酸、NADP、固氮酶等。

还原 NADP 是铁氧还蛋白最重要功能之一。其反应是在 Fd:NADP 还原酶(FNR)催化下进行。FNR 分子质量为 33kDa，含 1 分子黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)。一般认为 FNR 在类囊体的非垛叠区，也发现它可以和细胞色素 $b_6/f$ 复合体结合在一起。FNR 通过黄素将 $H^+$ 转移到 $NADP^+$，完成非循环电子传递。Fd 也可以将电子传递到细胞色素 $b_6$，再传递到质醌，形成围绕 PSI 的循环电子传递。

严格地说，铁氧还蛋白是光合电子传递的最终产物，在无 $NADP^+$ 的情况下，加入铁氧还蛋白，仍然可以光合放氧和产生 ATP。此外，铁氧还蛋白也参与循环电子传递。再者，铁氧还蛋白是 C、N、S 同化的中心，在碳同化中，铁氧还蛋白还与硫氧还蛋白的还原有关。

## (二) 环式电子传递

环式电子传递的存在虽然早已得到证明，但其途径并不很明确。从目前的研究结果看，环式电子传递可能是多途径的。

PSII 上可能存在通过细胞色素 $b_{559}$ 的环绕 PSII 的电子循环，此循环由醌提供电子给细胞色素 $b_{559}$，再传递给与 P 680紧密结合的光合能量传递体叶绿素 a 传递给 P680。在饱和光照下，约有 15% 的电子进行此循环。也有实验说明在光系统 II 内有去镁叶绿素→细胞色素 $b_{559}$→P680 的电子循环途径。

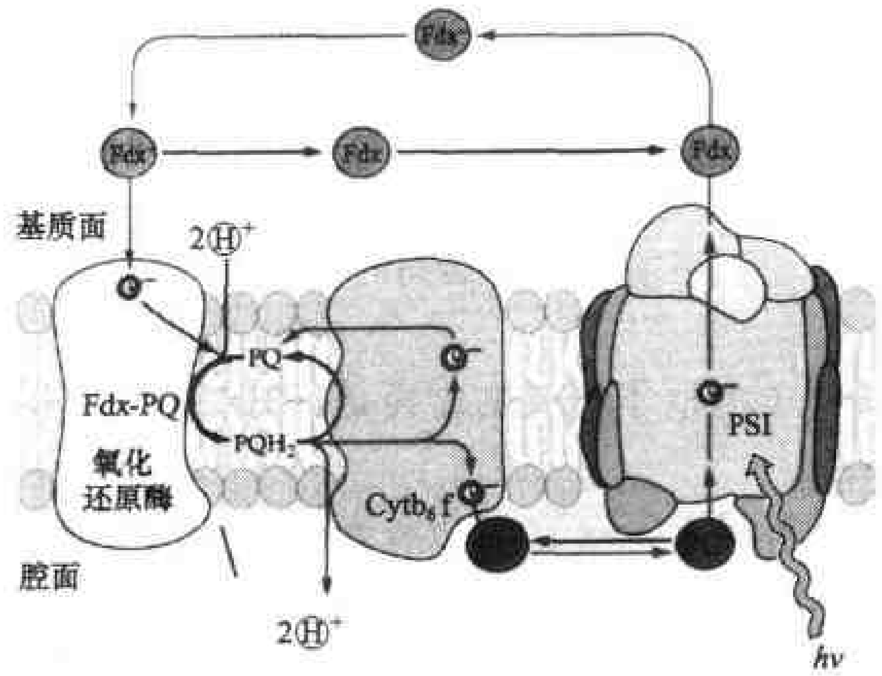



图 6-18 电子经 Fd 的循环传递途径
(Buchanan et al. 2000)

电子还可以经 Fd:质醌氧还酶作用下从 Fd 传递给质醌(图 6-18)；也可以从 Fd 直接传递给细胞色素 $b_6f$ 复合体，还可以将 NADPH 转换为 NADH，然后由 NADH 脱氢酶将电子传递给质醌。

植物通过 Z 链的电子传递，产生 ATP 和 NADPH，用于碳的固定。但是 ATP 和 NADPH 的需求量是随代谢的和生理的状态而改变的。当电子通过 PSI 和细胞色素 $b_6f$ 复合体进行循环传递，此时虽然没有 NADP 的生成，但由于电子的传递仍然形成跨膜的 pH 梯度，因此仍有 ATP 的合成。植物通过 PSI 的环式电子传递可以在光照或 $CO_2$ 不足，或光抑制的条件下，满足 ATP 合成的需要。此外某些需要 ATP 的代谢过程也可能由循环电子传递来提供 ATP，例如这一途径是 $C_4$ 植物维管鞘细胞叶绿体中作为提供碳固定所需 ATP 的重要途径。此外，一些循环途径可能在消耗掉多余的光能，保护光合作用系统中起作用。

# 第五节 ATP 的合成

如前所述，电子传递的结果不仅是使 NADP 还原，同时还形成了跨类囊体膜的 pH 梯度。这种跨类囊体膜的 pH 梯度正是 ATP 合成的能量来源。由于光合作用电子传递而引起的 ATP 的合成，称光合磷酸化(photophosphorylation)。光合作用和 ATP 磷酸化偶联的现象是 20 世纪 50 年代由 Daniel Arnon 等人发现的。发生电子传递而不伴随磷酸化则称为去偶联(uncoupling)。

目前认为，ATP 的合成是通过化学渗透机制(chemiosmotic mechanism)在类囊体上的 ATP 合成酶上进行的。

## 一、ATP 合成酶

叶绿体的 ATP 合成酶又称光合磷酸化反应偶联因子(coupling factor)，是直径约 10nm 的球型颗粒，它是由跨膜的 $CF_0$ 单位和位于类囊体基质侧起催化作用的 $CF_1$ 单位所组成。ATP 合成酶只存在于与基质直接相接触的类囊体(基质类囊体和基粒类囊体的非垛叠区)的外表面上。ATP 合成酶 $CF_0$-$CF_1$ 不仅在 ATP 的合成反应中起关键的作用，它同时具有 ATP 酶的活性，即可以利用水

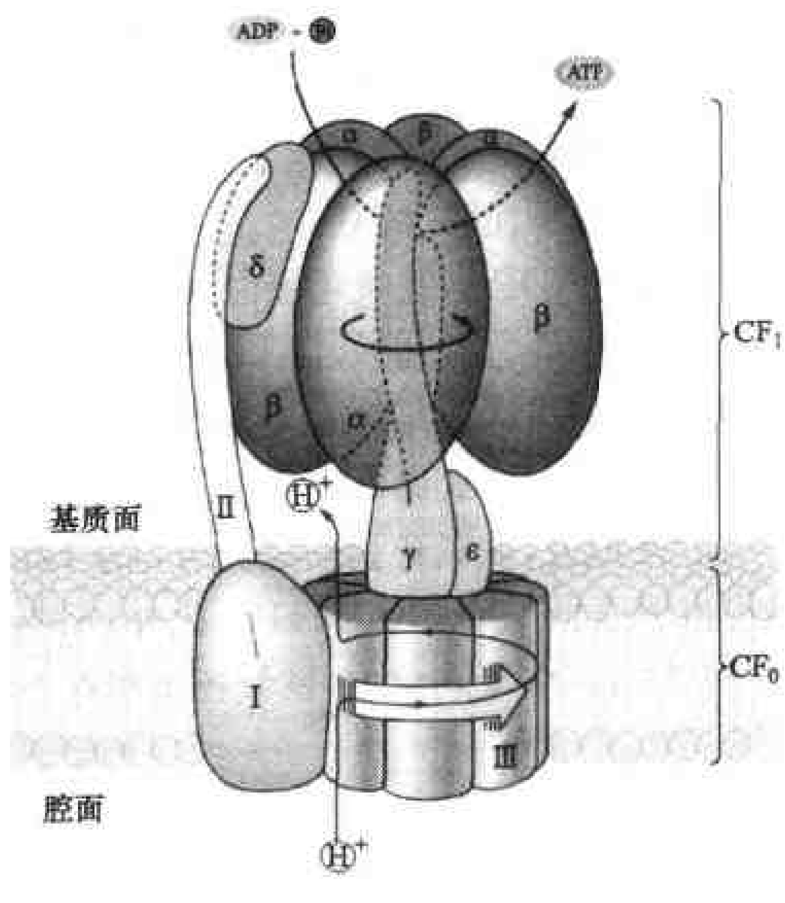



图 6-19 ATP 合成酶结构(Buchanan et al. 2000)

解 ATP 的能量进行质子的跨膜运输。

ATP 合成酶分为 $F_0$ 和 $F_1$ 两部分(图 6-19)。$F_1$ 只是松散地连结在 $F_0$ 上，在低浓度离子(特别是 $Mg^{2+}$)条件下脱离 $F_0$。$F_1$ 当脱离 $F_0$ 时，表现为 ATP 酶的活性，因此 $F_0$ 对于偶联因子的 ATP 合成功能是很重要的。$F_0$ 和 $F_1$ 都是多亚基的蛋白复合体(表 6-6)。

**表 6-6　ATP 合成酶的蛋白亚基**

| 蛋白多肽 | 基因 | 基因的位置 | 分子质量/kDa | 功能 |
|---|---|---|---|---|
| $CF_1$ | | | | |
| 亚基 | *atpA* | 叶绿体 | 55 | 催化 |
| 亚基 | *atpB* | 叶绿体 | 54 | 催化 |
| 亚基 | *atpC* | 细胞核 | 36 | 控制质子流 |
| 亚基 | *atpD* | 细胞核 | 20 | $CF_1$ 和 $CF_0$ 的结合调控 |
| 亚基 | *atpE* | 叶绿体 | 15 | ATP 酶活性的抑制 |
| $CF_0$ | | | | |
| I | *atpF* | 叶绿体 | 17 | 使 $CF_0$ 与 $CF_1$ 结合 |
| II | *atpG* | 细胞核 | 16 | 使 $CF_0$ 与 $CF_1$ 结合 |
| III | *atpH* | 叶绿体 | 8 | 质子的输送 |
| IV | *atpI* | 叶绿体 | 27 | 使 $CF_0$ 与 $CF_1$ 结合 |

## (一) $CF_1$

$CF_1$ 的分子质量大约为 325kDa，其中包括 5 个亚基，α 亚基 55～56kDa，“长条”形；β 亚基 52～54kDa，“椭圆”形；γ 亚基 37kDa；δ 亚基 21～25kDa；ε 亚基 14kDa。它们的组成比例为 α∶β∶γ∶δ∶ε＝3∶3∶1∶1∶1。

α 亚基和 β 亚基交替排列组成“头部”中空的六角形。α 亚基可能还有将 $CF_1$ 结合到 $CF_0$ 的作用。而 $CF_1$ 的 ATP 结合位点是在 β 亚基上。γ 亚基位于 α 和 β 组成的“六角形”的空隙，对催化起重要作用。它含有大量半胱氨酸残基(约每个肽链含 4 个)，半胱氨酸残基对酶的活性是很重要的。ATP 酶在黑暗中是失活的，酶活可以被光或二硫苏糖醇(DTT)激活，可能是由于对亚基上二硫键的影响。δ 亚基位于柄部，连结着 $CF_1$ 和 $CF_0$。去除 δ 亚基对 ATP 酶的活性没有影响，它主要起阻止 $H^+$“泄漏”的作用，因此可以通过影响质子的通过来调节光合磷酸化。ε 亚基对质子的通过也有影响，去除它会刺激 ATP 酶活性而加上后有可抑制 ATP 酶活性。总的来说，$CF_1$ 的可能多肽结构是：由 α 和 β 亚基加上 γ 亚基组成它的头部；由 α 的一部分以及 δ 和 ε 亚基组成“柄部”；

利用 *N*-乙基，顺丁烯二酰亚胺(与—SH 基反应)测量结果表明。在黑暗中 γ-亚基上的—SH 被“埋藏”在多肽链中，而在光下又暴露出来，用与—SH 结合的药物处理使 ATPase 的活性增加，说明—SH对 ATP 合成具有调节作用。光对 $CF_0$-$CF_1$ 的活化作用不仅是通过跨类囊体膜 ΔpH，此外还通过硫氧还蛋白系统。硫氧还蛋白通过其他叶绿体蛋白来改变亚基上的—SH。当处于非活化状态时，光合磷酸化需要更高的 ΔpH。

叶绿体的 $CF_1$ 和线粒体的 $F_1$ 都具有 ATP 酶活性，但两者有不同的特点。$CF_1$ 的激活需要有—SH 基化合物，如二硫苏糖醇。在 $F_1$ 上 6 个核苷酸结合位点中 3 个在 ATP 水解中发生迅速的交换，推测是催化位点，而另 3 个位点上 ATP 和 ADP 的交换，远较酶促反应为缓慢，称为非催化位点，这些位点也许在调节 ATP 酶的活性上起作用。催化位点位于 β 亚基，而非催化位点在 α 和 β 亚基的交面上或其中之一上。催化位点是协同作用的，单个位点的催化速率很慢，而当底物结合于第二位点时，催化速率可提高 $10^3$～$10^4$ 倍。

## （二）$CF_0$

$CF_0$由 I、II、III、和 IV 四个亚基组成。

亚基 I 分子质量 18～19kDa；亚基 II 分子质量 16kDa；亚基 III 分子质量 8kDa；亚基 IV 分子质量 27kDa。它们的分子组成比例为 I∶II∶III∶IV＝1∶1∶12∶1。它们形成埋入膜内的质子通道。I 和 II 可能是柄的一部分；亚基 III，也称为蛋白脂（proteolipid），形成质子通道；亚基 IV 可能与质子通道的孔的形成有关，它有 5 个跨膜的螺旋，其中的一个具有许多带电荷的氨基酸残基并与亚基 III 连接。膜脂也是形成有效的 $CF_0$所必需的。

# 二、ATP 产生的机制

叶绿体中光合作用生成 ATP 的过程和线粒体中呼吸作用生成 ATP 的过程在许多方面有类似的地方，因此在光合磷酸化的机制的问题上常借用线粒体氧化磷酸化的研究结果。目前在解释 ATP 合成机制方面比较公认的学说是化学渗透学说和 ATP 合成酶的变构学说。

化学渗透学说是 1961 年英国生物化学家 P. Mitchell 提出，他因此获得 1978 年诺贝尔奖。

化学渗透学说认为：电子传递链的各组分在产生 ATP 的膜系统中的分布是不对称的，电子在电子传递体的传递过程起着质子泵的作用，因而在膜的两侧形成了 pH 梯度（$\Delta pH$）及电位梯度（$\Delta\psi$）。在这个梯度的驱动下，质子穿过内膜上的 ATP 酶复合物流回到基质，其能量促使 ADP 和 Pi 合成 ATP。化学渗透学说强调膜结构的完整性，如果膜不完整，质子能自由通过膜，则无法在内膜两侧形成质子动力势，那么就会发生解偶联现象，一些解偶联剂的作用就在于改变膜对 $H^+$的通透性，从而使电子传递所释放的能量不能转换合成 ATP。此外，化学渗透学说强调呼吸链组分在线粒体内膜上分布的非对称性，由于这种不对称性才使质子的跨膜转移成为可能。

由 Paul Boyer 提出的 ATP 酶催化 ADP 形成 ATP 的机制称为结合转化机制（binding-change mechanism）或变构学说。P. D. Boyer 和 J. E. Walker 由于在 ATP 酶催化 ADP 形成 ATP 研究工作方面的贡献，获得了 1997 年诺贝尔化学奖。

变构学说认为：在 ATP 形成过程中，与 ATP 合成酶活性密切有关的 $F_0$的 3 个 β 亚基各具一定的构象，分别称为紧张（tight）、松弛（loose）和开放（open），各自对应于底物的结合、产物形成和释放等三个过程（图 6-20）。构象的相互依次转化是和质子的通过引起 γ 亚基的旋转相偶联的。当质子顺质子电化学梯度流过 $F_0$，使 γ 亚基转动，γ 亚基的转动引起 β 亚基的构象依紧张→松弛→开放的顺序发生改变，使 ATP 得以合成并从催化复合体上释放。具体说，ADP 与 Pi 与开放状态的 β 亚基结合；在质子流的推动下 γ 亚基的转动使 β 亚基转变为松弛状态并在较少的能量变化情况下，ADP 与 Pi 自发地形成 ATP，再进一步转变为紧张状态；β 亚基继续变构成松弛状态，使 ATP 被释放，并可以再次结合 ADP 与 Pi 进行下一轮的 ATP 合成（图 6-20）。在 ATP 的整个合成过程中，主要耗能的步骤是 ATP 的释放，而非 ATP 的合成。

对 $F_1$-ATPase 的晶体结构分析结果表明，3 个 β 亚基的构象是不同的，γ 亚基插入这个催化复合体的中心。在 β 亚基和组成“外圈”的 α 亚基和 β 亚基的界面是高度疏水的，这种疏水性使 β 亚基与外圈亚基间的相互作用很小，有利于 γ 亚基的转动。Yoshida 研究组将荧光的微丝片段（约 1μm）“黏结”在 γ 亚基上，当加入 ATP 时，在荧光镜下直接观察到荧光微丝的转动，说明 γ 亚基在质子通过时确实发生了转动。

质子从 $CF_0$ 到 $CF_1$的运动可能受 ε 亚基（或许还有 δ 亚基）的构象变化的调节控制。

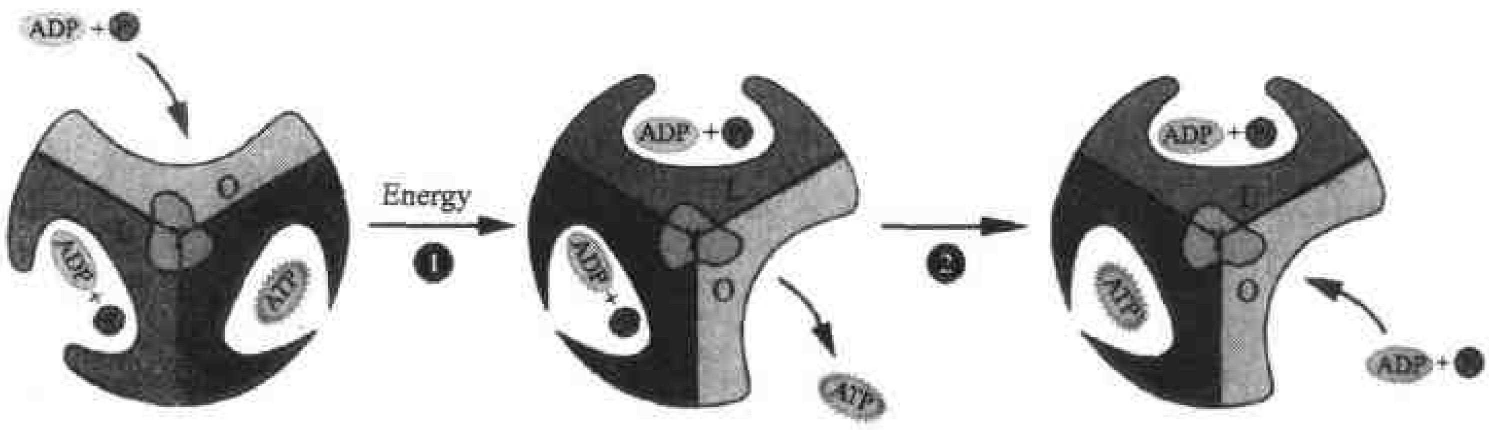



图 6-20　ATP 合成的变构学说模式图 (Buchanan et al.　2000)
γ 亚基的转动引起 β 亚基的构象依紧张(T)→松弛(L)→开放(O)的顺序发生改变，
完成 ADP 和 Pi 的结合、ATP 的合成以及 ATP 的释放过程。

## 第六节　光能的分配调节和光保护

自然界中光是变化最大的环境因素。一天中光强和光质始终处于变动之中，一年中每天的光照长度会发生周期性的变化，气候的变化也会影响光照情况。在正常条件下，植物能够通过各种调节过程，精确地控制和调节光能在光系统间的平衡分配，使光合作用高效地进行。但是在许多情况下，外界的光照常超出植物的调节范围，例如在夏日的高光照条件下，植物吸收的光能常超出植物所能利用的范围，多余的能量会造成植物光合系统的损伤，因此植物还需要通过一定的方式将多余的能量消耗掉，避免对植物光合系统的损害。

### 一、光能的分配调节

在高等植物和藻类中，光合作用是通过两个独立的，在空间上分离的光系统进行的。这两个光系统有各自的天线系统进行光能的吸收和传递，引发光化学反应形成电子传递。但是这两个光系统在功能上是相互联系的，电子传递通过两个光系统的串联才能得以完成(Z 链)，任何一个光系统效率的降低都会引起整个光合效率的降低。因此光能在两个光系统间分配的不均衡必然会使得光合作用效率降低。只有当吸收的激发能在两个光系统平衡时，光能的转化效率才能达到最高。在植物体中，植物吸收的光能在两个光系统间的分配受到有效的调节控制，保证了光合作用的高效进行和对环境变化的适应。

除了两个光系统的串联电子传递要求光能在两个系统间的平衡外，光系统的调节还因为要适应不同光强条件以及代谢对同化力及电子动势的需求，例如对 NADPH 和 ATP 的不同需求。

#### (一) 光能分配的状态

虽然光系统 II 和光系统 I 具有不同的光吸收特性，但是植物的光合作用在相当宽的光谱范围内，其量子产率是和光照的波长无关的。这个现象说明，植物具有调节光能在两个光系统间分配比例的能力。

Bonaventure 和 Myers(1969)在限制光条件下用主要被 PSI 吸收的光(>700nm)照射小球藻细胞，发现吸收的激发能向 PSII 的分配比例增加；如用主要为 PSII 吸收的光(650nm)照射则激发能向 PSI 的分配比例增加。因此将激发能向 PSII 分配比例增加的状态称为“状态 I”(State 1)；而将激发能向 PSI 分配比例增加的状态称之为“状态 II”(State 2)。这种激发能的分配转换也被称为“满溢效应”(spill over)。

## (二)光能分配调节的机制

**1. 阳离子对光能分配状态的诱导作用**

实验发现,满溢效应可以通过在体外控制类囊体膜周围阳离子的浓度来诱导。当提高阳离子(例如镁离子)浓度时,PSII 的荧光强度增加而 PSI 荧光强度降低,表明阳离子使激发能向 PSII 的分配增加而向 PSI 的分配减少。阳离子诱导激发能分配改变的原因认为可能是因为阳离子"屏蔽"了类囊体膜表面上主要来自 LHCII 羧基的净负电荷,从而引起膜结构或构型的改变,由于光系统的分布与类囊体的结构有关,因此膜结构的改变也引起了光能分配的改变。例如,在体外分离类囊体时,由于失去内源阳离子会发生类囊体的解垛(垛叠的基粒类囊体分离),加入阳离子后可以使分离的类囊体重新垛叠起来。由于 PSII 主要分布在类囊体的垛叠区,因此类囊体的这种变化会直接影响光能向两个光系统的分配。

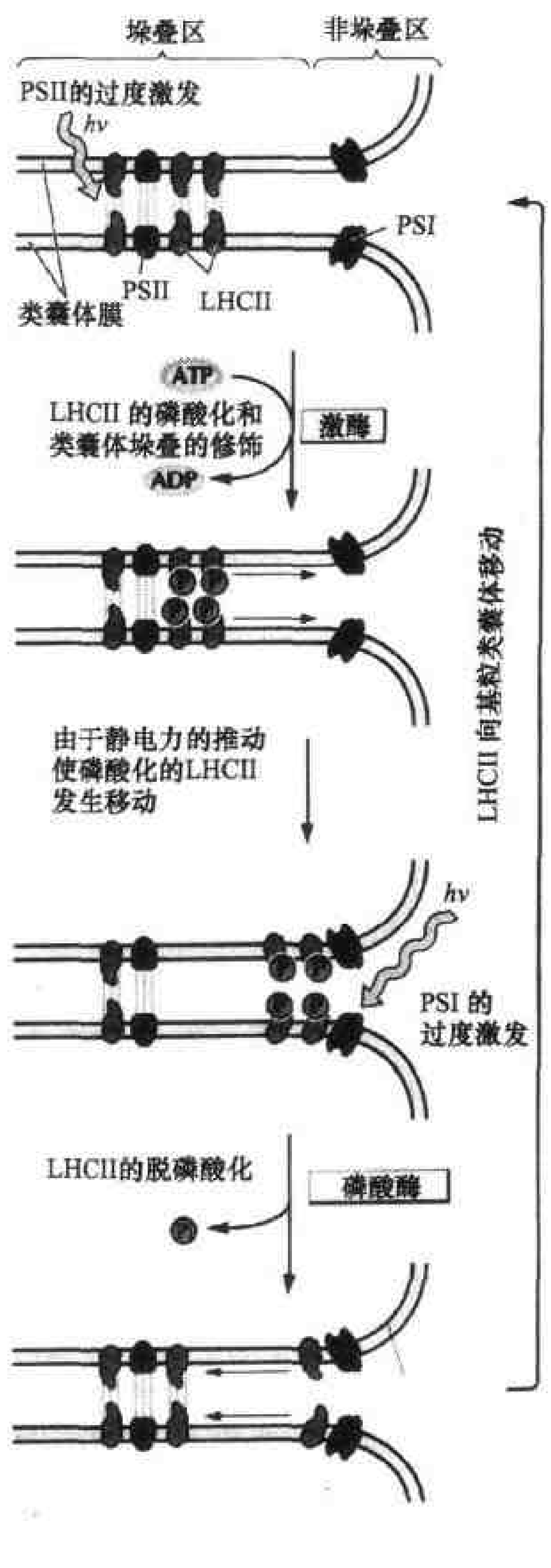



图 6-21 光能分配的磷酸化调节机制
(Buchanan et al. 2000)
LHCII 的磷酸化被光能的分配状态调控,并引起 LHCII 在类囊体垛叠和非垛叠区的移动,从而使光能在两个光系统间的分配得到平衡。

**2. 光能分配的磷酸化调节**

(1) *捕光色素蛋白 LHCII 与光能分配状态* 20 世纪 80 年代初期发现,完整叶绿体膜在光下与 $Mg^{2+}$、ATP 保温可诱导捕光色素蛋白 LHCII 磷酸化,同时使吸收的激发能有利于向 PSI 分配,即诱导状态 II;而在暗中这一过程可逆转,已磷酸化的 LHCII 发生脱磷酸化,同时激发能有利于向 PSII 分配,即诱导状态 I。以后又证明 LHCII 磷酸化和脱磷酸化对光能分配的调节作用取决于与膜结合的 LHCII 激酶和磷酸脂酶活性的平衡,以及质醌氧化还原状态的控制。形成光能分配的 LHCII 磷酸化/脱磷酸化调节机制。

光能分配的 LHCII 磷酸化/脱磷酸化调节机制可以表述如下:当 PSII 被光能优先激发时,PQ 被还原,PQ 的还原使 LHCII 激酶活化,引起 LHCII 磷酸化,因而导致状态 I 转变为状态 II,有利于光能向 PSI 分配;反之,当 PSI 被光能优先激发,PQ 被氧化,PQ 的氧化使 LHCII 磷酸脂酶活化,引起 LHCII 脱磷酸化,因而导致状态 II 转变为状态 I,有利于光能向 PSII 分配。

(2) *天线移动假说* 如上所述,研究结果证明了磷酸化和脱磷酸化参与了光能分配的调节。进一步的问题是 LHCII 的磷酸化和脱磷酸化如何调节光能在光系统间的分配。为了说明 LHCII 磷酸化/脱磷酸化调节光能分配的机制,提出"天线移动"的假说(图 6-21)。

天线移动假说认为:捕光的天线色素蛋白 LHCII 磷酸化后,会从 PSII 分布的基粒类囊体的垛叠区向 PSI 分布的基质类囊体移动,因此扩大了 PSI 的捕光而积,使吸收的光能更多的向 PSI 分配;反之,当 LHCII 脱磷酸化后,则从基质类囊体向基粒类囊体垛叠区移动,其结果是扩大了 PSII 的捕光而积,使吸收的光能更多的向 PSII 分配。

天线移动假说已经被一些实验观察所证实。当叶绿体膜经蛋白磷酸化后,确实发现有天线蛋白 LHCII 由垛叠区向非垛叠

区的转移。

### （三）细胞色素 $b_6f$ 复合体在光能分配中的作用

虽然捕光色素蛋白复合体的磷酸化机制较好地解释了光能在两个光系统间的分配调节的问题，但是实验表明，LHCII 在光能分配的不同状态下在类囊体不同区域间的移动量仅为其总量的 10%～20%，不能以天线色素蛋白复合体的移动来完全满足光能分配的需要。用分部分离和免疫细胞化学显微术相结合的研究表明：玉米和衣藻基质片层中细胞色素 $b_6f$ 复合体的数量在“状态 II”下显著地多于在“状态 I”下，说明随着从状态 I 转变为状态 II，伴随着细胞色素 $b_6f$ 复合体从基粒膜向基质膜的迁移，而且这种重分配的数量约为细胞色素 $b_6f$ 复合体的 30%～40%。

此外，细胞色素 $b_6f$ 复合体对 LHCII 的磷酸化也是必需的。利用突变体的研究发现，在细胞色素 $b_6f$ 复合体的缺失突变体中，类囊体膜结构、PSII 和 PSI 反应中心都正常，质醌库也正常，但是无论在光下或还原质醌条件下，都不发生 LHCII 的磷酸化，而且突变体无光能分配的状态转换。

因此，细胞色素 $b_6f$ 复合体不仅可以通过在类囊体不同区域间的移动来协调能量在两个光系统间的分配，而且细胞色素 $b_6f$ 复合体还参与了 LHCII 的磷酸化过程。

## 二、光保护作用

光能是光合作用的基本要素。捕光色素复合体使光能可以更为有效地传递到光反应中心，而这样又可能使得传递到光反应中心的激发能超出光系统可以“使用”的能量，而“多余”的能量将导致光合系统的破坏。实际上，在绝大多数情况下即使是光合效率较高的阳生植物也不可能利用所吸收的所有光能。因此植物的光保护机制对于植物的生存是至关重要的。

光合生物在进化的过程中，产生了多层次的光保护机制，以保障植物在多变的光照条件下（在许多情况下是伤害性的）进行高效的光合作用的同时，不受到光的伤害（图 6-22）。

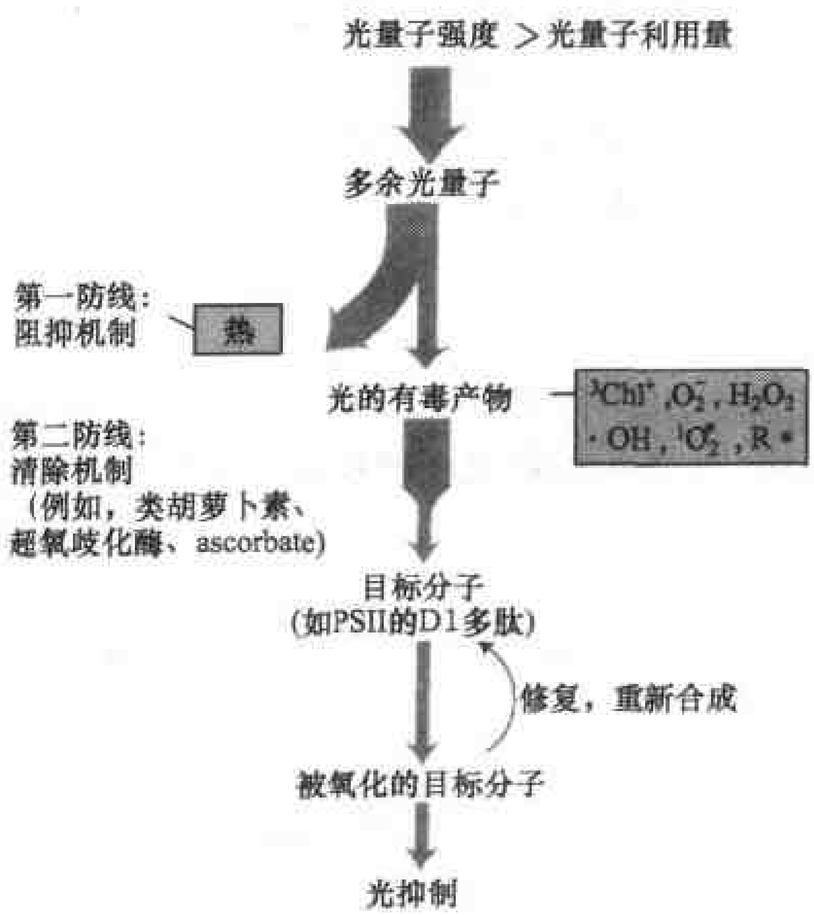



图 6-22　光合系统的多层次光保护和修复机制
（Taiz & Zeiger　1998）

### （一）植物的一般性减少光破坏的途径

植物在进化过程中发展出多方面的防止或减轻光破坏的系统。就整体植物来说，植物可以通过形态上的变化或代谢上的变化，减少光能的吸收或消耗更多的光能以达到减少光破坏的结果。

首先，植物通过各种方式减少光能的吸收，以达到降低光破坏的目的。叶片是光能吸收的主要器官，减少叶面积，在叶表面形成叶毛或表面物质，改变叶与光的角度等都可以降低光能的吸收。例如在高光照的地区，植物叶片常较小；在干燥、高光照的沙漠地区，一些植物的叶变态为刺（当然这和水分平衡也是有关的）。一些植物叶的表面形成叶毛结构，形成角质或蜡质层不仅可以减少水分的散失，而且也可以减少光的吸收。在许多植物中，叶肉细胞的叶绿体可以随入射光强度改变其在细胞中的分布。在弱光下，叶绿体以其扁平面向着光源，并散布开以获得最大的光吸收面积；而在强光下，叶绿体则以其窄面向着光源，并沿光线排列相互遮挡以减少光的吸收面积。

植物细胞还可以通过改变光合组分的量，减少光能吸收或加强代谢，达到降低光破坏的效果。例

如，在弱光下生长的植物叶绿体中LHC的含量常高于强光下生长的植物叶绿体的含量，LHC在类囊体膜中含量的改变可以改变天线的面积，从而改变光能的吸收量。此外，弱光下的植物叶绿体中光反应中心复合体的含量常少于强光下的，强光下较多的光反应中心复合体有利于消耗较多的光能从而减少激发能在光反应中心的积累。再者，当光强增加时，与电子传递链有关的组分和Rubisco等的含量也增加，因此电子传递速率和$CO_2$固定增加。这样就有较多的光能被利用，也就减少了激发能的积累。

## （二）活性氧的消除

叶绿素吸收光能后，会迅速地将光能传递到反应中心，利用吸收的光能进行光化光能学反应，推动一系列的电子传递过程，产生同化力，用于碳固定反应。叶绿素吸收光能后成为激发态的叶绿素，激发态的叶绿素通过能量转移、光化学反应等方式回到基态，称为猝灭（quench）。如果不能及时被猝灭，激发态的叶绿素就会与环境中的分子氧作用，产生单线态氧（singlet oxygen）。具单线态氧的分子的氧化活性非常强，会作用于许多细胞组分，特别是脂类，并造成这些细胞组分的破坏。

植物可以通过许多机制消除破坏性的活性氧。例如在植物细胞中有过氧化氢酶、过氧化歧化酶、抗坏血酸还原酶、谷胱甘肽还原酶、抗坏血酸氧化酶等酶系统，可以使氧自由基、过氧化物等失活，防止对植物细胞的破坏。植物中的酚类化合物、类胡萝卜素等可以直接猝灭单线态氧。类胡萝卜素还在叶绿素的能量猝灭中起重要的作用。叶绿素的激发能可以迅速转移到类胡萝卜素，激发态的类胡萝卜素的能量不足于形成单线态的氧，而只能通过热耗散的方式回到基态。这样，叶绿素所吸收的多余激发能就可以被类胡萝卜素以热耗散的方式消耗掉，而没有破坏性的单线态氧的发生。缺失类胡萝卜素的光合生物的突变体在光和氧分子同时存在下难以生存，说明类胡萝卜素在防止光下单线态氧发生中的重要性。

## （三）非光化学猝灭

非光化学猝灭（non-photochemical quenching）是指光化学反应之外的使叶绿素荧光发生猝灭的过程。非光化学猝灭在调控光能从天线系统向光反应中心分配中起非常重要的作用。当叶绿素吸收的光能较少时，植物可以降低或关闭非光化学猝灭使光能较多地向光反应中心传递；而当叶绿素吸收光能较多时，非光化学猝灭就会增加而使多余的激发能通过其他途径被消耗掉。

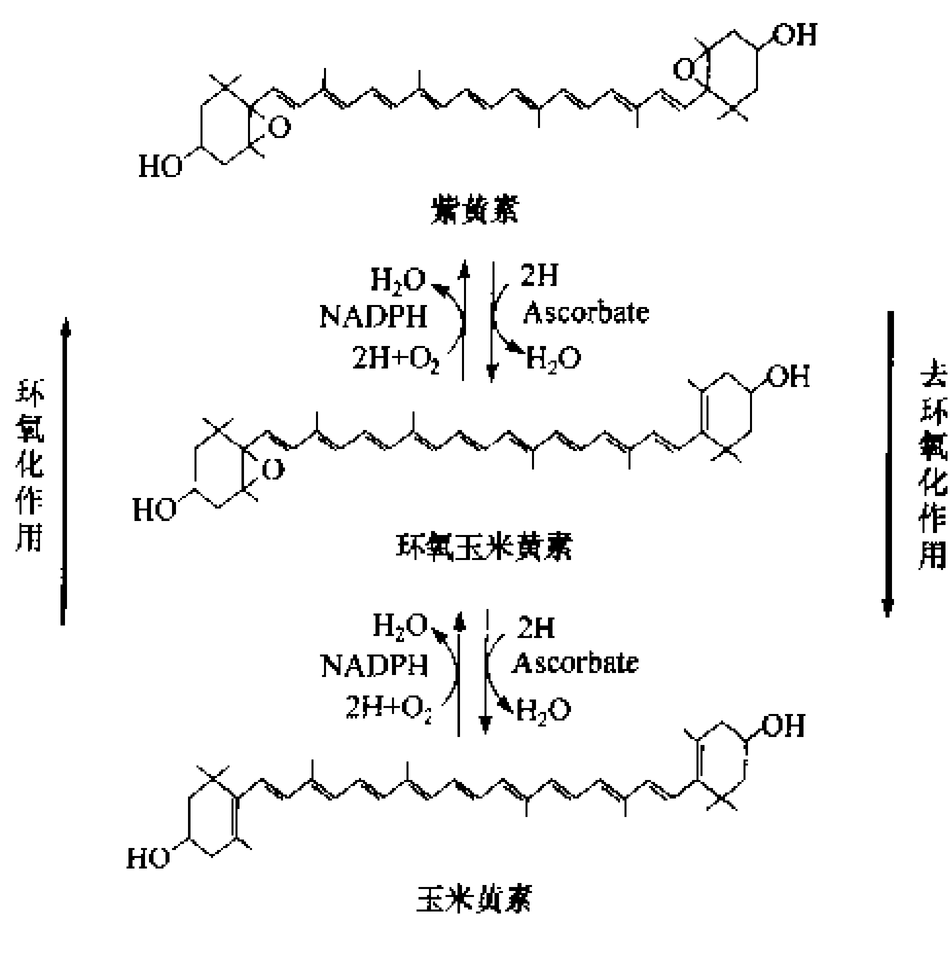



图6-23　叶黄素循环（Taiz & Zeiger　1998）

非光化学猝灭的分子调控机制还不完全清楚。类囊体腔的pH、天线复合体的聚集等因素对非光化学猝灭有一定的调控作用。在非光化学猝灭途径中，叶黄素起着相当重要的作用。

**1. 叶黄素循环**

叶黄素（xanthophyll）是属类胡萝卜素的一类色素。图6-23所给出的是涉及叶黄素循环的三种叶黄素：紫黄素（violaxanthin）、玉米黄素（zeaxanthin）和环氧玉米黄素（antheraxanthin）。它们可以在紫黄素脱环氧化酶和玉米黄素环氧化酶的作用下，相互转变，形成叶黄素循环。

叶黄素循环是在分析植物叶片中类胡萝卜素含量变化时发现的。在强光和缺氧的条件下，紫黄素含量会降低并发生脱环氧化作用；而在暗中有氧条件下，玉米黄素含量降低，环氧玉米黄素含量增加，同时紫黄素也开始增加，并进行环氧化作用，由此提出叶黄素循环：

$$\text{紫黄素} \underset{\text{暗},O_2}{\overset{\text{光},N_2}{\rightleftarrows}} \text{环氧玉米黄素} \underset{\text{暗},O_2}{\overset{\text{光},N_2}{\rightleftarrows}} \text{玉米黄素}$$

大多数叶黄素循环色素位于类囊体膜上，并存在于所有 LHCII 中。也有报道认为，紫黄素和玉米黄素存在于所有叶绿素蛋白复合体中，如棉花 PSI 捕光色素蛋白上存在的叶黄素循环色素约占叶黄素库总量的 1/3。在自然条件下生长的植物叶片中，玉米黄素的含量表现出明显的昼夜规律性，一般当早晨叶片接受阳光时，叶片中几乎不含玉米黄素，到中午光照高峰时，玉米黄素达到最高，到夜间含量为零。

催化叶黄素循环的是紫黄素脱环氧化酶和玉米黄素环氧化酶。紫黄素脱环氧化酶催化紫黄素脱环氧化作用，位于类囊体腔中，在 $pH<6.5$ 时被活化，并与类囊体结合进行催化反应，在 pH 7.0 时失活，从类囊体膜上脱离。玉米黄素环氧化酶催化玉米黄素环化作用，是含铜氧化酶，最适 pH 7.5。

综上所述，引起非光化学猝灭的高光条件趋向活化紫黄素脱环氧化酶，生成玉米黄素；而低光条件则活化玉米黄素环氧化酶，生成紫黄素。因此，玉米黄素是和非光化学猝灭状态有关的，而紫黄素则是在不存在非光化学猝灭时发生累积。

一般认为叶黄素循环功能在于利用紫黄素脱环氧化的色素循环来耗散激发能，从而保护了光合器官免遭光破坏。玉米黄素可以直接猝灭和纯化叶绿素的单线激发态，以热的形式耗散激发能。类胡萝卜素（叶黄素也属类胡萝卜素）与叶绿素之间的能量传递需要它们在光谱上重叠，而各种类胡萝卜素单线激发态能量的高低取决于其分子中共轭双键的多少，共轭双键较多则单线激发态能量较低。在一般情况下类胡萝卜素的单线激发态是类胡萝卜素的捕光能态，将能量传递给反应中心的叶绿素。在叶黄素循环的从紫黄素向玉米黄素的转化中，共轭双键从 9 个增加到 11 个，根据推算，具有 9 个共轭双键的紫黄素的单线激发态要高于 11 个共轭双键的玉米黄素的单线激发态，而又低于叶绿素分子的单线激发态。因此叶绿体中叶黄素循环可能通过调节共轭双键来调节能量的流向。

但也有人认为叶黄素的环氧化反应可以消耗掉对植物有损伤作用的活性氧，因而起到了保护的作用。

## （四）光抑制和光系统 II 的修复

在高光强下，植物的光合作用会产生光抑制的现象。光抑制（photoinhibition）是指多余光能对光合作用产生抑制作用，使光合作用的量子效率下降的现象。光抑制的特性取决于植物所吸收的光能超出其光合作用所需的大小，当所超出的光能并不是很多时，虽然光合的量子效率下降，但光合作用的最高速率并不受影响。这种量子效率的下降通常是暂时的，当光强下降到饱和光强以下时可以恢复其原来的水平。这种光抑制反应称为动态光抑制（dynamic photoinhibition）。动态光抑制的量子效率下将是由于植物将所吸收的多余光量于转变为热能而耗散掉的结果。但是多余的光能不能被完全转化为热耗散掉时就会对光系统造成伤害，这样的伤害不仅导致量子效率的降低，同时也使光合最高速率下降，而且这种光抑制是较长期的，可以持续数周，甚至数月。这种光抑制反应称为慢光抑制（chronic photoinhibition）。因此，动态光抑制反映了植物对光能的调控机制，而慢光抑制则表明多余光能已经超出植物可能的调节范围而对植物造成了伤害。因此植物不仅要将多余的光能耗散掉，同时还需要对受损伤的光合系统进行修复。

PSII 被证明是最易受光抑制的光合结构。

在光合细胞中，光系统 PSII 是非均一，异质的。根据其连接天线色素的大小，可分为 PSII α 和

PSIIβ，PSIIα 占光系统 II 总量的 75%～80%，存在于垛叠区，对高光强敏感；PSIIβ 占光系统 II 总量的 20%～25%，存在于非垛叠区，对高光强不敏感。根据 PSII 上 $Q_B$的还原能力，还可以将 PSII 分为可还原 $Q_B$的和不可还原 $Q_B$的。不可还原 $Q_B$的 PSII 是刚合成或修复的 PSII，这种 PSII 尚未具备完整的 $Q_A \rightarrow Q_B$的电子传递能力。这类 PSII 在叶中约占 20%，其主要特征是 $Q_A$的氧化速度比正常的低 100 倍。

PSII 在高光强下被破坏的主要结构是组成其反应中心的 D1 多肽链。因此，PSII 的修复需要有新的 D1 多肽的合成，而 PSII 上的其他多肽则可能是被重复使用的。

对于 PSII 异质性与周转有两种模型：一种认为 PSII 的失活变化受类囊体膜能量化的控制，在叶绿体内存在一类无活性的 PSII，很可能是 $Q_A \rightarrow Q_B$电子传递受阻，但它与周围有活性的 PSII 仍有密切联系，主要进行热耗散，当光胁迫解除后一部分失活的 PSII 在无 D1 蛋白合成条件下，直接恢复活性，也有部分要经 D1 蛋白修复循环才能转变为有活性的 PSII。另一种模型则认为，植物通过调节 D1 蛋白的周转速率来调节对光强的适应，而 D1 蛋白周转受类囊体膜垛叠的调控。

此外，在 PSII 上存在循环的电子传递途径，通过这样的"无效"循环可以把过多的光能变成热散失掉，保护 PSII 免遭强光破坏。

## 小　　结

光合作用是植物和光合细菌利用太阳能生产有机物的过程，是地球上有机物和大多数能量的来源。

光能被光合色素，主要是叶绿素所吸收。叶绿素被光量子激发跃升到激发态。激发态的叶绿素可以通过热耗散、辐射荧光耗去能量以及能量转移、光化学反应等途径，回到其基态。光合色素都是结合在整合于类囊体膜的蛋白多肽上，构成色素蛋白复合体。

吸收的光能通过天线色素间的能量传递被传递到光反应中心。光反应中心是由多条多肽和一系列电子传递体组成的蛋白复合体，是进行光化学反应将光能转变为化学能的关键部位。一般认为，光反应中心上进行原初光化学反应或原初电荷分离的是一对"特殊对"叶绿素。光合生物中存在两类光反应中心：一类是醌为最终电子受体的，称为醌型光反应中心；另一类是以铁-硫中心作为电子的最终受体，称为铁硫型反应中心。

在植物和一些原核光合生物中存在两个串联的光反应中心——光系统 II 和光系统 I。这两个光反应中心串联起来推动电子传递，从水中夺取电子（氧化水）并将电子最终传递给 NADP（还原 NADP），形成所谓的非循环电子传递（即 Z 链）。光系统 II 具有氧化水，放出氧气的重要功能，通过光系统 II 上锰聚集体的不同氧化状态（S 状态）的依次转换，逐步氧化水放出氧气。光系统 II 和光系统 I 在空间上是分离的，光系统 II 主要位于基粒类囊体的垛叠区，而光系统 I 主要位于基质类囊体。在两个光系统间还有质醌、质蓝素和细胞色素 $b_6f$ 复合体进行电子的传递。细胞色素 $b_6f$ 复合体还在质子的跨膜转移中起重要的作用。在电子传递过程中形成的跨类囊体膜的电化学梯度，主要是 pH 梯度，是光合合成 ATP 的能量来源。ATP 合成酶利用质子流推动其 γ 亚基转动，引起 β 亚基的构象发生转变，因而完成 ADP 与 Pi 的结合、ATP 形成和 ATP 释放的过程，进行 ATP 的合成。NADPH 和 ATP 形成光合作用的同化力，被用于 $CO_2$的固定，合成有机物。

光能在两个光系统间的不平衡会降低光合作用的效率，而多余的光照更会造成光系统的破坏，因此光能向光系统输送的多少和在两个光系统间的分配比例都是受到精细地调控的。捕光色素蛋白 LHCII 的磷酸化与光合蛋白复合体在类囊体不同区域间的移动在光能在两个光系统间的分配中起重要的作用。类胡萝卜素可以猝灭激发态的叶绿素并以热耗散的方式消除多余的能量，减少了向光反

应中心输送的能量，保护光系统免受多余激发能的破坏。叶黄素循环也在光保护反应中起非常重要的作用。

**思考题**

(1) 叶绿素蛋白是如何进行分类的，它们各有何特点？

(2) 类囊体膜上的蛋白复合体的分布有何特点，这样的分布特征与它们的功能有什么联系？

(3) 在类囊体反应中，涉及哪些蛋白复合体，它们的主要功能是什么？

(4) 捕光色素蛋白 LHCII 的结构和功能是什么？

(5) 在光合生物中存在哪两类光反应中心，它们有何共同的特点，它们又有何各自的特点？

(6) 如何证明植物中存在两个串联的光反应系统？

(7) 光系统 II 如何进行水的氧化，其中涉及哪些关键装置，氧气的释放步骤如何？

(8) 细胞色素 $b_6f$ 复合体是如何使质子进行跨膜转移的？

(9) ATP 合成酶是如何进行 ATP 的合成的？

(10) 什么是光能分配的状态 I 和状态 II，植物是如何实现光能在两个光系统间的平衡分配的？

(11)什么是光抑制，植物体进行光保护的机制有哪些？

# 第七章　光合作用(II):光合碳同化

在光合作用光反应过程中,伴随 $H_2O$ 被光解氧化及光合作用电子传递,$NADP^+$ 被还原,与电子传递偶联的光合磷酸化产生了 ATP,即已将光能转换为活跃的化学能。在叶绿体中,利用 ATP 与 NADPH 贮存的能量,通过一系列酶促反应,催化 $CO_2$ 还原为稳定的碳水化合物,这就是 $CO_2$ 同化($CO_2$ assimilation)或碳固定(Carbon fixation)的过程。

研究发现,各种植物 $CO_2$ 同化途径有所不同,根据 $CO_2$ 同化过程中的最初产物及碳代谢特点,将光合碳同化途径分为三类:$C_3$ 途径($C_3$ pathway)、$C_4$ 途径($C_4$ pathway)和 CAM(景天科酸代谢 Crassulacean acid metablism)途径。相应的植物被分别称为 $C_3$ 植物($C_3$ plant)、$C_4$ 植物($C_4$ plant)和 CAM 植物(CAM plant)。本章将介绍 $CO_2$ 同化的不同途径;植物的光呼吸代谢;各种环境因子对光合作用的影响以及光合作用研究与农业生产的关系。

## 第一节　光合碳同化的 $C_3$ 途径——卡尔文循环

1946 年美国加州大学的卡尔文与本森的实验室采用 $^{14}C$ 同位素标记测定及双向纸层析技术,以小球藻为实验植物发现了光合作用中 $CO_2$ 固定的反应步骤,推导出 $CO_2$ 同化的途径,被称之为卡尔文循环(Calvin cycle),他们因此而荣获 1961 年诺贝尔化学奖。在这条途径中,$CO_2$ 被固定后形成的最初产物为三碳化合物,所以也被称为 $C_3$ 途径或光合碳还原循环(photosynthetic carbon reduction, PCR cycle)。这是植物光合作用固定 $CO_2$ 的基本循环,是放氧光合生物同化 $CO_2$ 的共有途径。

### 一、卡尔文循环的反应步骤

卡尔文循环包括核酮糖-1,5-二磷酸(ribulose-1,5-bisphosphate,RuBP)的羧化、$C_3$ 产物的还原和 RuBP 的再生三个阶段(图 7-1),共 14 步反应,所有反应在叶绿体基质中完成。卡尔文循环的详细反应过程如图 7-2 所示,其中图 7-2A 表示羧化和还原过程,图 7-2B 表示 RuBP 的再生过程。

#### (一) RuBP 的羧化

进入叶绿体的 $CO_2$ 与其受体 RuBP 结合后经水解生成 3-磷酸甘油酸(3-PGA)(图 7-3)。这是光合作用碳同化的第一步骤,$CO_2$ 被固定,实现了无机物向有机物的转化。

图 7-3 所示反应分两步进行:第一步为羧化反应(carboxylation),即 RuBP 接受一分子 $CO_2$,其分子上部羧基化,形成一不稳定的中间化合物;第二步为水解反应,即该中间化合物水解形成 2 分子 3C 化合物。

催化羧化反应的酶是核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase,Rubisco)。该酶含量丰富,约占叶片可溶性总蛋白的 40%,在叶绿体基质中,Rubisco 活性位点浓度高达 4mmol/L,约为它催化的底物 $CO_2$ 浓度的 500 倍以上。Rubisco 既能催化 RuBP 与 $CO_2$ 的羧化反应,又能催化 RuBP 与 $O_2$ 的加氧反应。它催化的羧化反应是光合作用中最基本的碳还原反应。

#### (二) $C_3$ 产物的还原

在羧化反应中形成的 PGA 仅为有机酸,在叶绿体基质中,利用光合光反应生成的 ATP 与 NAD-

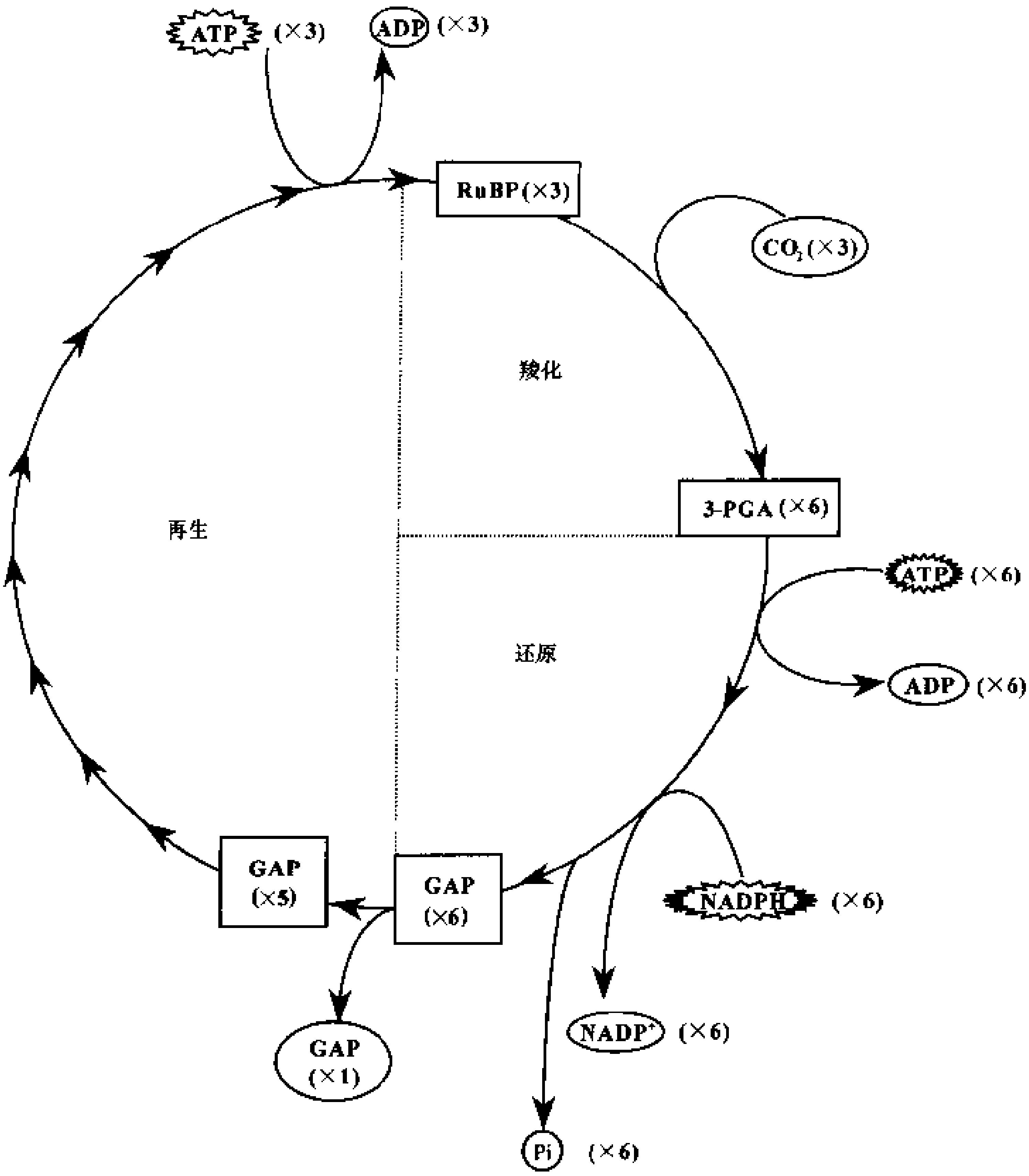



图 7-1　卡尔文循环过程中 RuBP 的羧化、PGA 的还原和 RuBP 的再生三个阶段示意图
(Buchanan et al. 2000)

PH 将 3-PGA 进一步还原为磷酸丙糖。

如图 7-2A 所示，3-磷酸甘油酸激酶催化 3-PGA 的磷酸化反应形成 1，3-二磷酸甘油酸，再由 NADP-甘油醛-3-磷酸脱氢酶催化形成甘油醛-3-磷酸（GAP）。GAP 是光合碳同化的重要产物。至此，3-PGA 被还原为糖，光合作用光反应中形成的同化力 ATP 与 NADPH 携带的能量转贮于碳水化合物中。

## （三）RuBP 的再生

叶绿体中需保持 RuBP 不断再生去接受 $CO_2$，卡尔文循环才得以继续运转。经羧化反应和还原反应形成的甘油醛-3 磷酸经过 3C、4C、5C、6C、7C 糖的一系列反应转化，形成核酮糖-5-磷酸（Ru5P），最后由核酮糖-5-磷酸激酶催化，消耗 ATP，再形成 RuBP。图 7-2B 表示 RuBP 再生的详细过程。

再生过程自 GAP 始，最终形成 RuBP，再生过程的总反应可表示为

$$5GAP + 3ATP + 2H_2O \longrightarrow 3RuBP + 3ADP + 2Pi + 3H^+$$

## （四）卡尔文循环的总反应式

卡尔文循环的总反应式可表示为

$$3CO_2 + 5H_2O + 9ATP + 6NADPH \longrightarrow GAP + 9ADP + 8Pi + 6NADP^+ + 3H^+$$

在卡尔文循环中，每同化 3 分子 $CO_2$，消耗 9 分子 ATP 与 6 分子 NADPH，形成 1 分子磷酸丙糖，以很高的能量转化效率(80%以上)将光反应中转化的活跃化学能转换为稳定的化学能，暂时贮存在磷酸丙糖中。

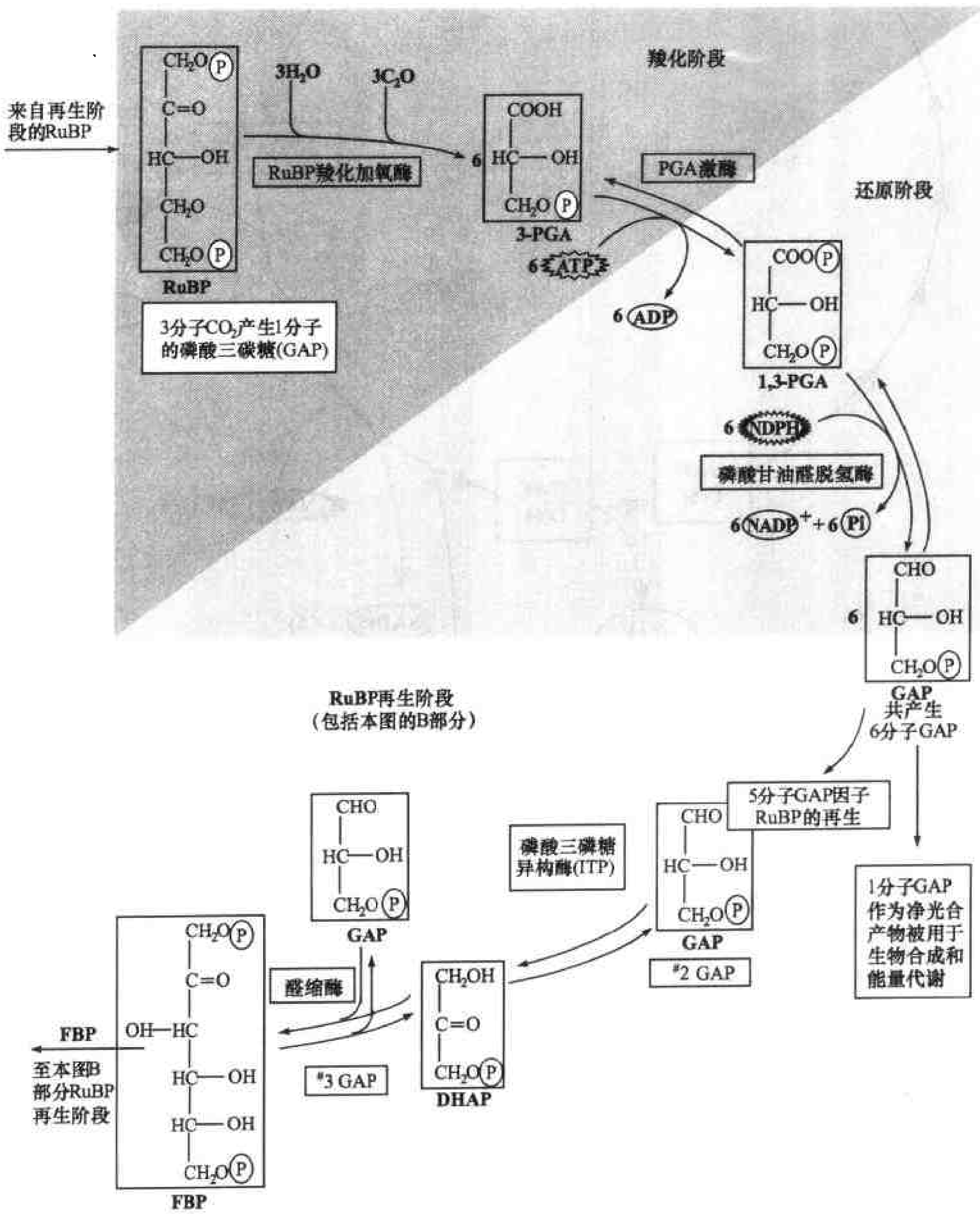



图 7-2A 卡尔文循环(Buchanan et al. 2000)

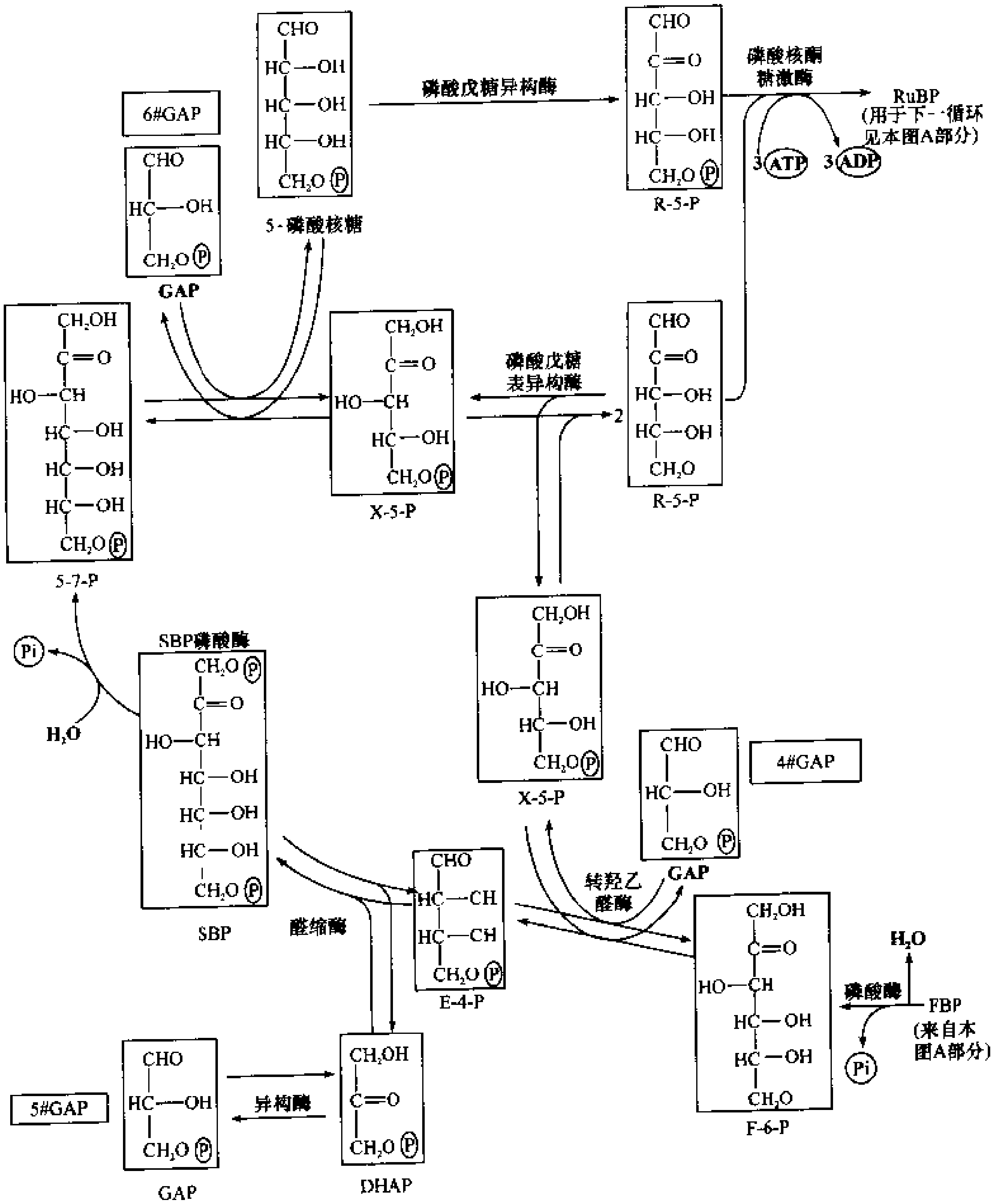



图 7-2B 卡尔文循环(Buchanan et al. 2000)

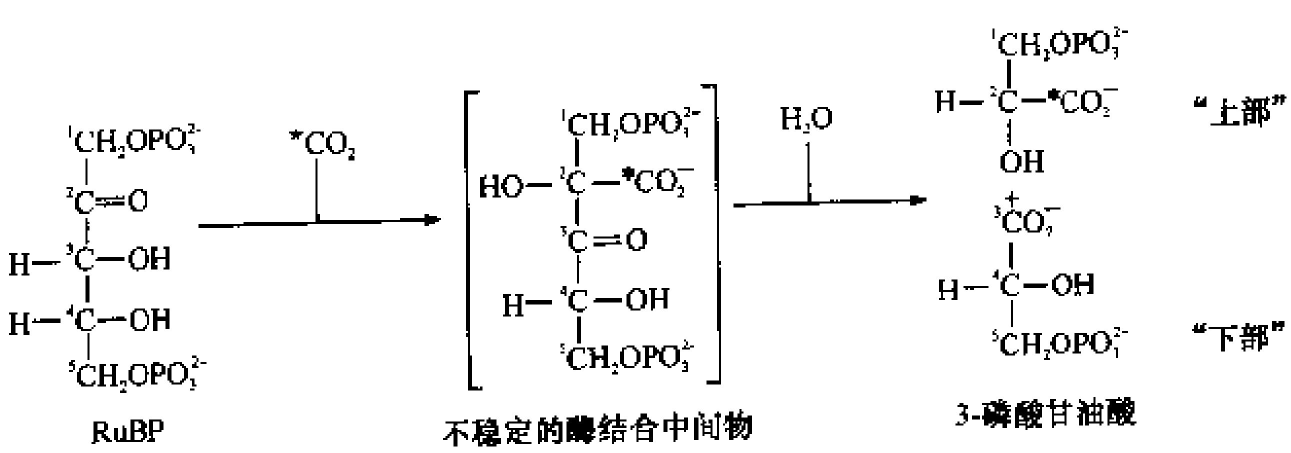



图 7-3 核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶催化的羧化反应(Taiz & Zeiger 1998)

## 二、卡尔文循环的调节

### （一）Rubisco 的活性调节

在高等植物中，Rubisco 由 8 个大亚基和 8 个小亚基组成，大亚基有 476 个氨基酸残基，56kDa，小亚基有 123 个左右氨基酸残基，14kDa，整个酶蛋白的分子质量共 560kDa。由 X 射线衍射可知每 2 个大亚基结合成一组，其间有个 $Mg^{2+}$ 作为连结的桥，每一大亚基都有一个催化部位和一个调节部位。编码 Rubisco 大亚基的基因在叶绿体的环状 DNA 上，较简单，只有一个。而 Rubisco 的小亚基是由核基因编码的，如番茄有 5 个，在 2 号和 3 号染色体上，每个基因有大小不同的内含子（intron）。在核中转录形成 RNA 后，在胞质中翻译形成 Rubisco 的小亚基前体，运入叶绿体后切去前导肽，同时进入的还有核编码的结合蛋白，它先和大亚基结合后才能和小亚基结合，形成 Rubisco 的全蛋白。

Rubisco 是光调节酶：光对其大小亚基的基因转录都有影响，在小亚基基因的上游区有光调节的启动子（promoter），只在叶片中对光反应而表达，在根中则没有，而且是红光 远红光可逆反应，说明光敏色素参与其调节。同时，光调节 Rubisco 的酶活性，表现昼夜节奏变化。Rubisco 被 $CO_2$ 与 $Mg^{2+}$ 活化，叶绿体基质中 $H^+$ 和 $Mg^{2+}$ 浓度有光暗的变化，光驱动 $H^+$ 从基质到类囊体的囊内腔，基质中 pH

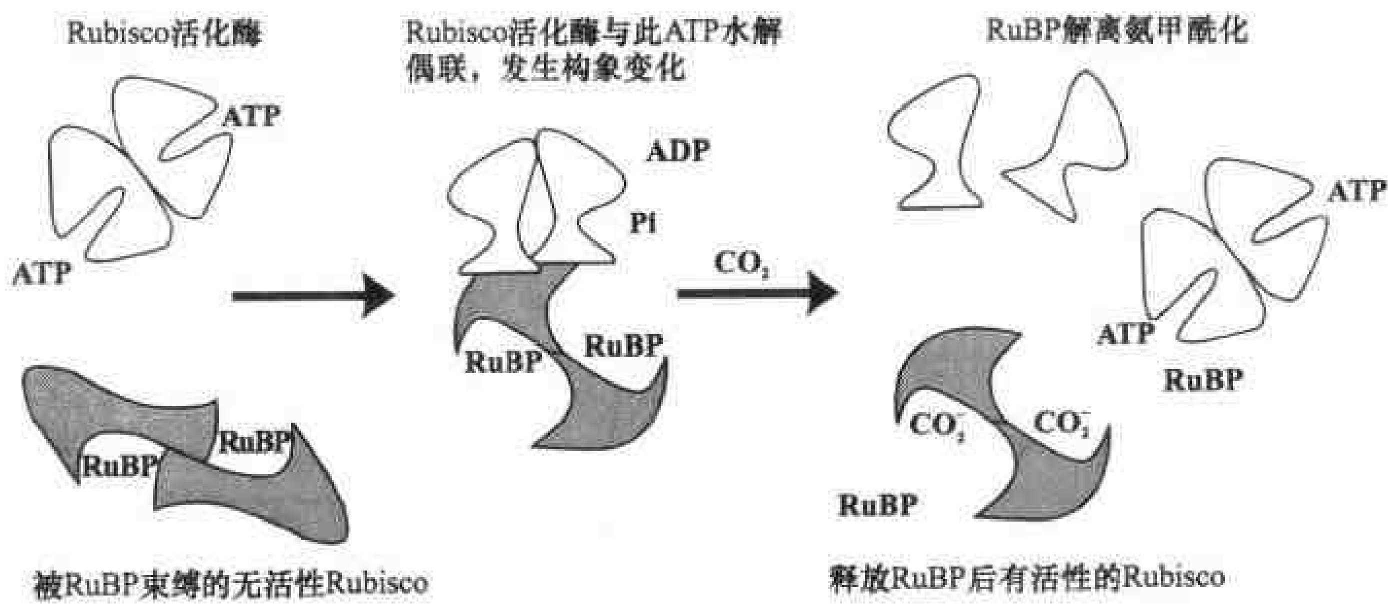



图 7-4　Rubisco 活化酶偶联 ATP 水解，使脱氨甲酰化的非活化型 Rubisco 解除与 RuBP 的结合，才能与 $CO_2$ 和 $Mg^{2+}$ 结合而活化（Taiz & Zeiger　1998）

从 7 变化到 8 左右，这是 Rubisco 催化反应的最适 pH。伴随 $H^+$ 进入囊内的是 $Mg^{2+}$ 从囊内腔到基质中，Rubisco 与 $Mg^{2+}$ 结合而活化。

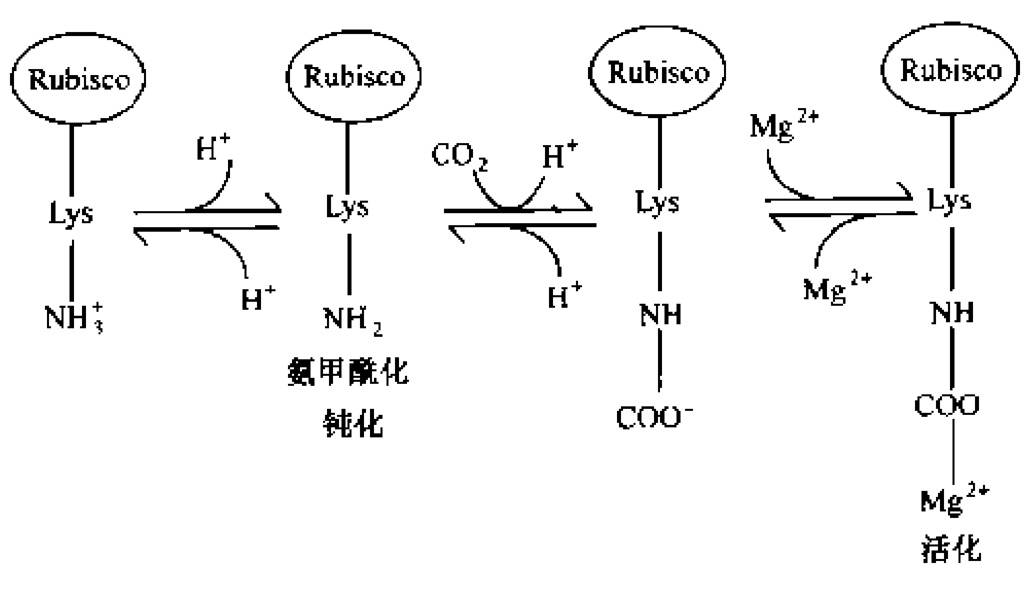



图 7-5　Rubisco 经酶活性位点的氨甲酰-$Mg^{2+}$ 形成而活化的机制（Taiz & Zeiger　1998）

近来发现了 Rubisco 活化酶，是一种核基因编码的酶蛋白，与 ATP 水解偶联而活化 Rubisco。暗中 Rubisco 与 RuBP 结合，没有催化活性；光下，Rubisco 活化酶经硫氧还蛋白活化后水解 ATP，使 Rubisco 构象变化、释放 RuBP 后才能通过结合 $CO_2$ 与 $Mg^{2+}$ 而活化（图 7-4）。$CO_2$ 结合到 Rubisco 大亚基活性位点的赖氨酸的氨基上，形成氨基甲酸酯 Lys-NH-$CO_2$，这样 $Mg^{2+}$ 再迅速结合到上面去，此时酶构象发生变化而具催化功能（图 7-5）。然后 Rubisco 才能依次结合 RuBP 和 $CO_2$，催化羧化反应。

## （二）卡尔文循环中的其他光调节酶

在卡尔文循环中，除 Rubisco 外，还有 NADP-甘油醛-3-磷酸脱氢酶（GAPDH）、果糖-1，6-二磷酸酯酶（FBPase）、景天庚酮糖-1，7-二磷酸酯酶（SBPase）、核酮糖-5-磷酸激酶（Ru5PK）等的活性都是受光调节的。这 4 种酶通过铁氧还蛋白-硫氧还蛋白系统的氧化还原控制酶活性，这个系统由铁氧还蛋白、铁氧还蛋白／硫氧还蛋白还原酶以及硫氧还蛋白组成，硫氧还蛋白中的硫氢基氧化态（—S S—）与还原态（—SH HS—）在光、暗下发生可逆变化，当光系统Ⅰ受光激发时，酶中的—S—S—被铁氧还蛋白-硫氧还蛋白还原酶催化还原成为—SH HS—，导致酶活化（图 7-6）。

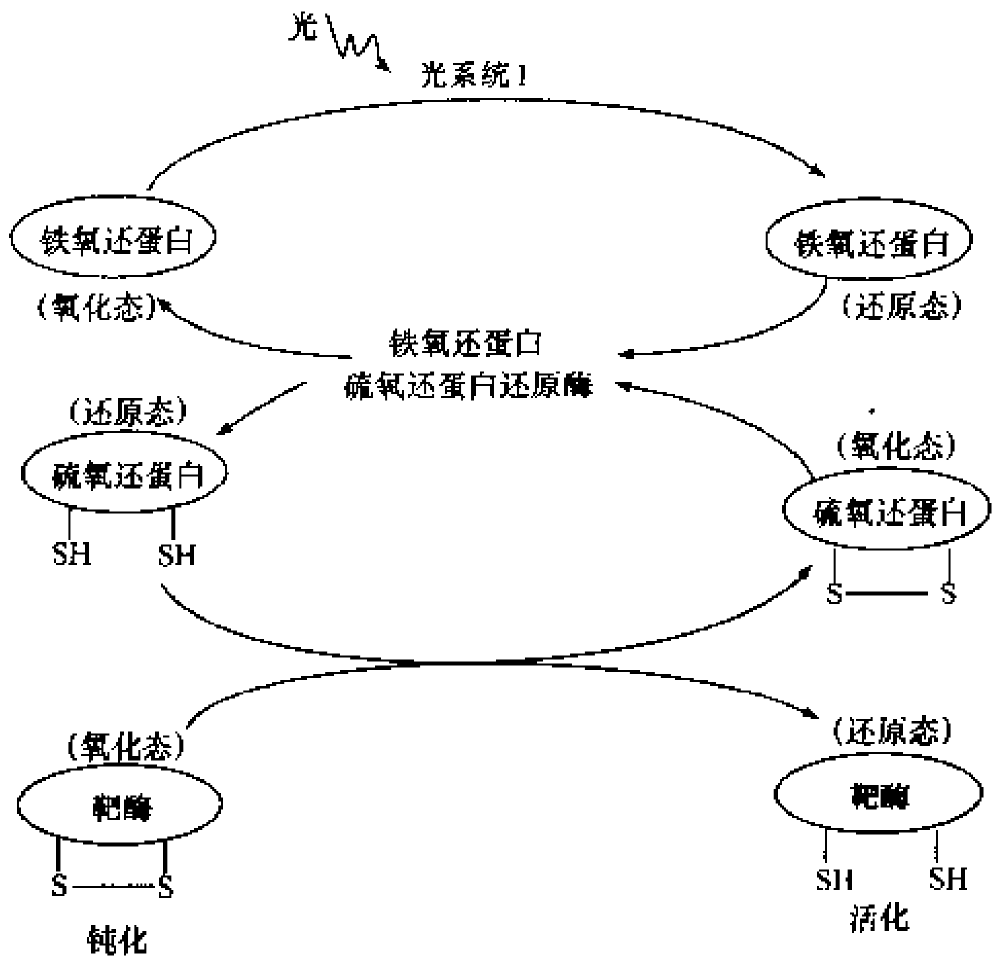



图 7-6 铁氧还蛋白-硫氧还蛋白系统提供一种光依赖的酶活性调节机制（Taiz & Zeiger 1998）

虽然 $CO_2$ 同化不直接需要光，但由于需要的同化力来自光反应，而且重要的酶都是光活化的，所以在暗中，由于缺乏同化力 ATP 与 NADPH，催化固定 $CO_2$ 的酶不活跃，加之气孔关闭，$CO_2$ 减少，因而光合作用、包括 $CO_2$ 同化的卡尔文循环不能继续进行。

## （三）光合产物的输出及其调节

叶绿体中合成的光合产物主要以磷酸丙糖运出到细胞质中，再转化成蔗糖。在叶绿体被膜上镶嵌有多种转运蛋白，如磷酸转运器、ATP/ADP 转运器、乙醇酸转运器、丙酮酸转运器、糖载体、氨基酸载体、离子通道等，控制和协调叶绿体内外的代谢物运输。其中的磷酸转运器（phosphate translocator）是磷酸丙糖与无机磷酸的反向共转运体，在将磷酸丙糖运出的同时将无机磷酸等量运入叶绿体，其运转机制见图 7-7。磷酸转运器是叶绿体内被膜上的重要蛋白质，由核基因编码，由 29kDa 的单体组成 61kDa 的二聚体，是疏水的内在蛋白，占叶绿体内被膜膜蛋白总量的 10%～15%。在光照条件下，叶绿体基质内卡尔文循环产生的磷酸丙糖被叶绿体内被膜上的磷酸转运器不断地运送至叶肉细胞的细胞质内、被用于蔗糖的合成；合成的蔗糖通过叶肉细胞质膜上的蔗糖运载体外运至质外体、并进一步被转运至筛管而进入维管束；蔗糖合成的同时所释放的细胞质内无机磷酸又被磷酸转运器运至叶绿体基质供光合作用利用。当胞质中蔗糖的利用减慢、外运受阻、胞质游离的无机磷酸水平下降时，磷酸丙糖外运减少，而在叶绿体内积累；叶绿体基质内磷酸丙糖的积累一方面可反馈抑制卡尔文循环的运行，另一方面也可能促进叶绿

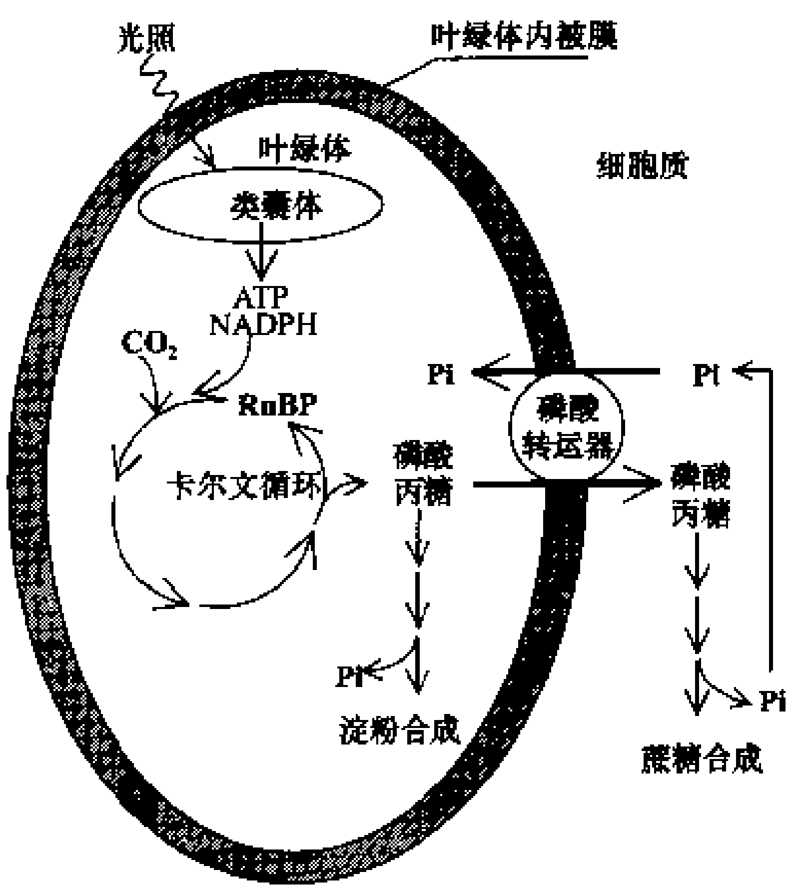



图 7-7 叶绿体内被膜上磷酸转运器的运转机制

体基质内淀粉的合成。而叶绿体基质内淀粉的积累可使叶绿体的光合作用功能下降。磷酸转运器的活动受到抑制时，自细胞质进入叶绿体基质的无机磷酸减少，导致 ATP 合成受阻、叶绿体基质内 ATP 水平下降而使卡尔文循环受到抑制。

由此可见，位于叶绿体被膜上的磷酸转运器是偶联叶肉细胞细胞质与叶绿体基质之间的重要“桥梁”，通过不断将光合产物（磷酸丙糖）自叶绿体基质运出和不断向叶绿体基质提供重要的光合底物（无机磷酸），保障着光合作用的进行。同时，通过磷酸转运器的调控，植物可有效地调节细胞内蔗糖和淀粉的合成。

## 三、光　呼　吸

Warburg 在 20 世纪 20 年代发现氧有抑制小球藻光合过程的作用，当氧浓度加倍时，其光合速率降低 50%，这种氧对光合作用抑制的现象被称为瓦布格效应（Warburg effect）。1955 年，Decher 测定烟草的光合速率时，观察到在停止照光后的短时间内，叶片大量释放 $CO_2$，即“$CO_2$ 猝发”（$CO_2$ outburst）现象。这些实验结果导致光呼吸（photorespiration）现象的发现，即植物的绿色细胞在光照下不仅进行 $CO_2$ 的同化，而且存在依赖光的吸收 $O_2$、释放 $CO_2$ 的反应，被称为光呼吸，也称光呼吸碳氧化循环（photorespiratory carbon oxidation cycle，PCO cycle）。

### （一）光呼吸代谢

整个光呼吸碳氧化循环在叶绿体、过氧化物体和线粒体三种细胞器中完成（图 7-8）。光呼吸碳氧化循环的最初反应是在叶绿体基质中 RuBP 被氧化成磷酸乙醇酸（glycolate），催化此反应的酶是 Rubisco。Ogren 等人发现此酶具有特殊性质，既催化 RuBP 的羧化反应，又催化 RuBP 的加氧反应。磷酸乙醇酸被磷酸酶催化脱去磷酸生成乙醇酸。

RuBP 在 Rubisco 的催化下发生的加氧反应过程可用以下两步反应表示：

$$\text{RuBP} + O_2 \xrightarrow{\text{Rubisco}} \text{磷酸乙醇酸} + \text{PGA} + 2H^+$$

$$\text{磷酸乙醇酸} + H_2O \longrightarrow \text{乙醇酸} + HOPO_3^{2-}$$

乙醇酸从叶绿体转移到过氧化物体中，在过氧化物酶催化下氧化为乙醛酸，经转氨基作用形成的甘氨酸进入线粒体，两分子甘氨酸形成一分子丝氨酸，并脱去 $CO_2$。丝氨酸返回过氧化物体，经转氨基和还原形成甘油酸，再返回叶绿体在甘油酸激酶催化下形成 3-磷酸甘油酸。光呼吸碳氧化循环过程的详细步骤见图 7-8。

总起来看，RuBP 氧化形成两分子磷酸乙醇酸，最后转化形成一分子 3-磷酸甘油酸，释放一分子 $CO_2$。其总反应式如下：

$$2\text{RuBP} + 3O_2 + 2\text{Fd}_{\text{red}} + 2\text{ATP} \longrightarrow 3\ \text{3-PGA} + CO_2 + 2\text{Fd}_{\text{ox}} + 2\text{ADP} + 2\text{Pi}$$

在光呼吸碳氧化循环中，乙醇酸、乙醛酸、甘氨酸等均为二碳化合物，因此，光呼吸碳氧化循环又称为 $C_2$ 循环。Rubisco 具羧化和加氧双重催化活性，RuBP 的羧化或加氧间的竞争使光合碳固定效率降低，所以在叶片中的光合碳代谢实际上是卡尔文循环与光呼吸碳氧化循环整合平衡的结果（图 7-9），卡尔文循环能独立运转，而光呼吸碳氧化循环却依赖于卡尔文循环中 RuBP 的再生。

两个环间的平衡主要决定于三个因子：Rubisco 的动力学特性、底物 $CO_2$ 与 $O_2$ 的浓度和温度。Rubisco 的底物 $CO_2$ 与 $O_2$ 竞争同一活性位点，互为抑制剂，酶催化反应的方向决定于 $CO_2/O_2$ 比值。在提供相同 $CO_2$ 与 $O_2$ 浓度条件下 Rubisco 与 $CO_2$ 的亲和性比与 $O_2$ 的亲和性高几十倍，但是在自然环境空气中，羧化反应仅为加氧反应的 3 倍，显然，提高 $CO_2$ 浓度可明显抑制光呼吸。当温度升高时，提高了 Rubisco 与 $O_2$ 的亲和力，$O_2$ 的吸收增加，表现光呼吸增加。

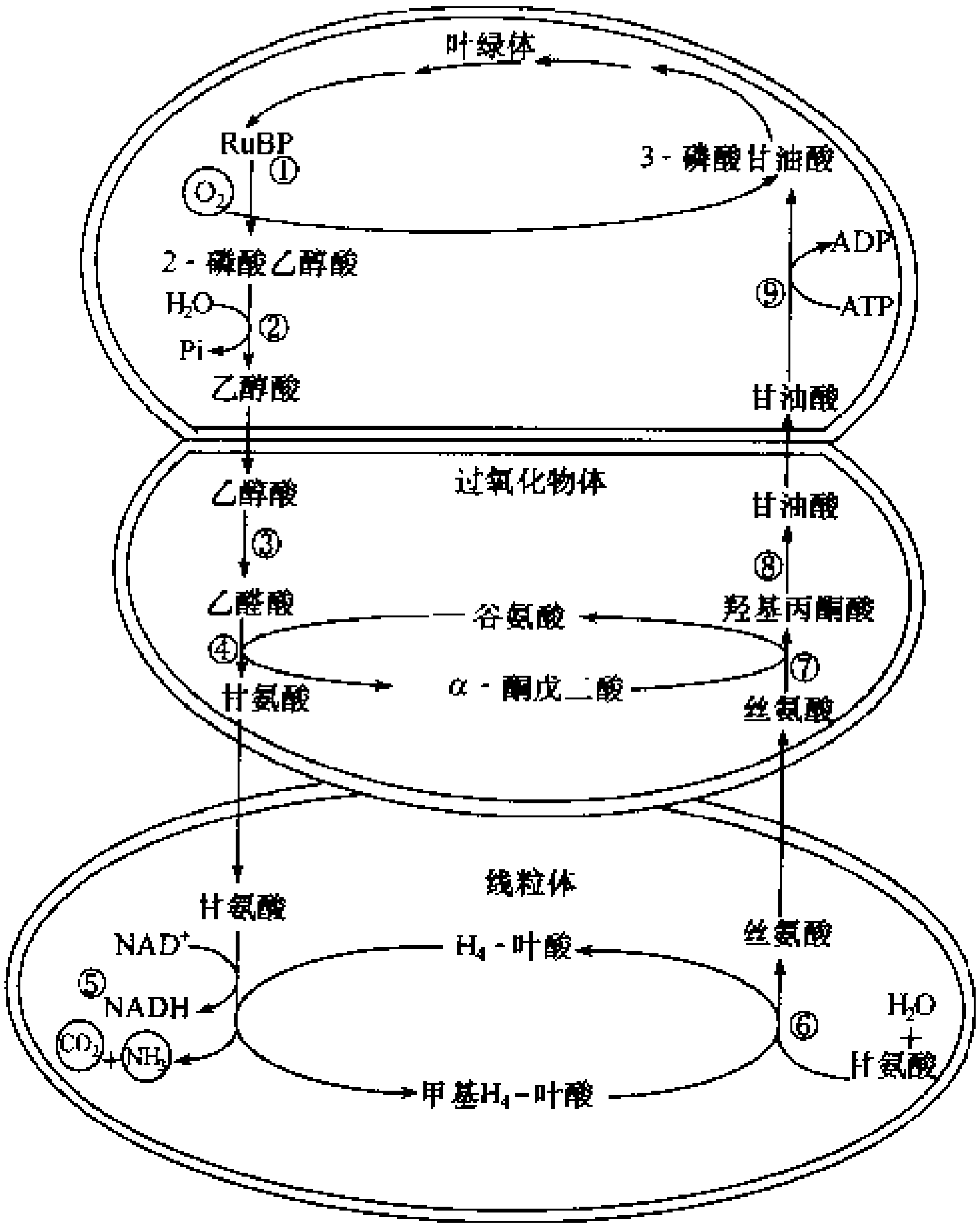



图 7-8 在叶绿体、过氧化体和线粒体中发生的光呼吸碳氧化循环（Taiz & Zeiger 1998）

① RuBP 加氧酶 ②磷酸乙醇酸磷酸酶 ③乙醇酸氧化酶 ④转氨酶 ⑤甘氨酸脱氢酶 ⑥丝氨酸羟甲基转氨酶 ⑦转氨酶 ⑧羟基丙酮酸还原酶 ⑨甘油酸激酶。

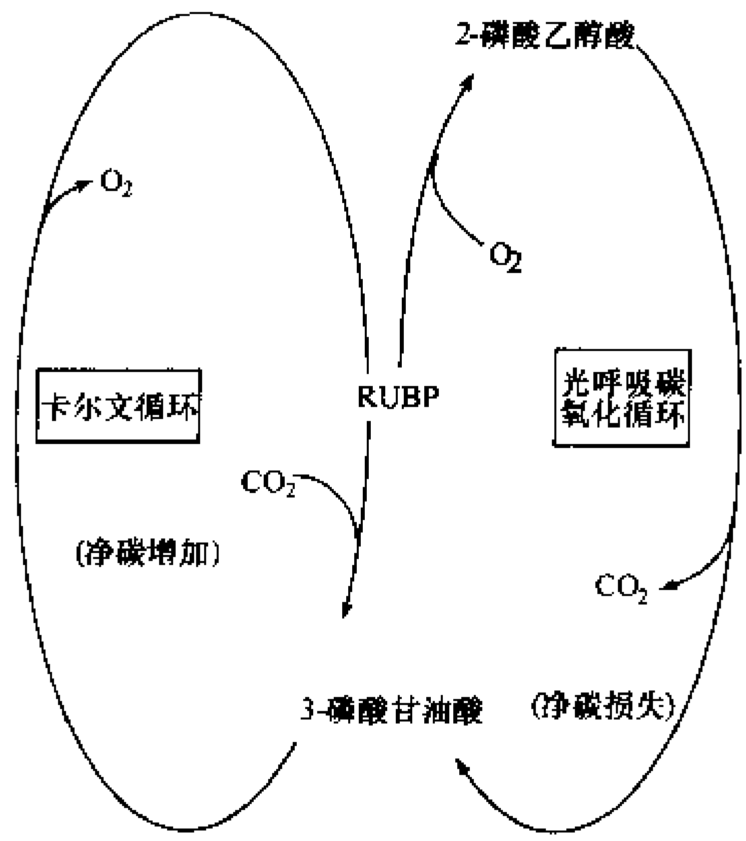



图 7-9 光合碳代谢中的 $C_3$ 与 $C_2$ 循环的整合平衡（Taiz & Zeiger 1998）

## （二）光呼吸的功能意义

光呼吸的生理功能尚不清楚。在早期地球上大气中 $CO_2/O_2$ 比例高的条件下，Rubisco 的加氧活性被抑制，随着绿色植物光合作用的进行，大气中 $CO_2/O_2$ 比值逐渐降低，催化加氧反应的活性表现出来，看似一种消耗过程，将光合作用已固定碳素的 1/4 氧化释放。但是，伴随光合作用的进行，磷酸乙醇酸的产生是不可避免的，事实上，经过 $C_2$ 循环可将乙醇酸中 75％的碳回收，并消除乙醇酸对细胞的毒害。同时，光呼吸过程中产生的甘氨酸和丝氨酸也可为蛋白质合成提供部分原料。

近年来利用拟南芥光呼吸缺陷型突变体的研究发现，在正常空气中该突变体不能存活，只有在高 $CO_2$ 浓度条件下才能存活。说明光呼吸可能有其特别重要的生理功能，在高光强和低 $CO_2$ 浓度下，其释放的 $CO_2$ 进入 $C_3$ 循环而被再利用，以维持光合碳还原循环的运转，同时也是消耗光反应产生的过剩 ATP 与还原力，防止光合机构受损的一种保护机制。

# 第二节　光合碳同化的 $C_4$ 代谢途径

在研究光合作用碳代谢过程中，利用 $^{14}C$ 标记的 $CO_2$ 饲喂甘蔗、玉米等植物，发现 70％～80％的

$^{14}CO_2$标记产物为 4C 酸而不是 3C 化合物，4C 酸形成的途径不同于卡尔文循环。Hatch 和 Slack 经过反复实验发现，这些植物固定 $CO_2$ 的最初产物是苹果酸或天冬氨酸等四碳二羧酸，催化羧化反应的酶是磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(phosphoenylpyruvate carboxylase，PEPC)，而不是 Rubisco，因而在 20 世纪 70 年代提出了 $CO_2$ 同化的 $C_4$ 途径，又称 Hatch-Slack 途径。

## 一、$C_4$ 植物解剖结构特征

已知被子植物中的 20 科约 2000 种植物具有 $C_4$ 光合碳固定途径。$C_4$ 植物叶片解剖结构与 $C_3$ 植物不同(图 7-10)，$C_4$ 植物叶片的栅栏组织与海绵组织分化不明显；维管束密集，维管束周围有发达的维管束鞘细胞(bundle sheath cell)形成花环状的结构。维管束鞘细胞中含有较大的叶绿体，与叶肉细

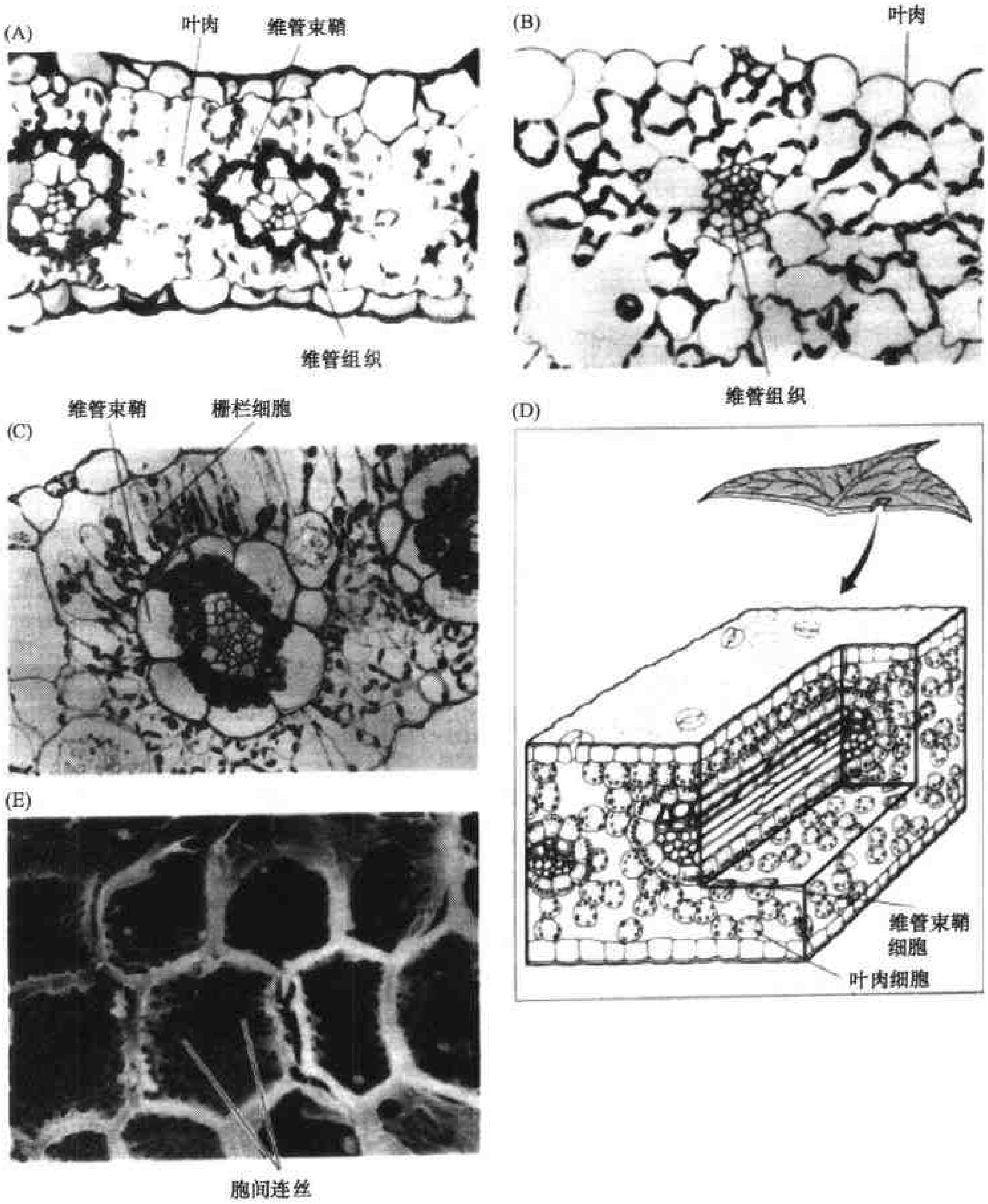



图 7-10 $C_3$ 植物与 $C_4$ 植物叶片解剖结构比较(Taiz & Zeiger 1998)

(A)4 单子叶植物玉米；(B)$C_3$ 单子叶植物燕麦；(C)$C_4$ 双子叶植物千日红；(D)$C_4$ 植物叶片的三维结构模式图；(E)$C_4$ 植物叶片扫描电镜图示维管束鞘细胞壁上的胞间连丝。

胞叶绿体相比,维管束鞘细胞叶绿体基粒垛叠较少;还有丰富的线粒体等其他细胞器;维管束鞘细胞与叶肉细胞间存在大量胞间连丝,有利于光合产物的转运。$C_4$植物的$CO_2$固定在叶肉细胞和维管束鞘细胞中进行。在两类光合细胞中含有不同的酶类,叶肉细胞中含PEPC,而维管束鞘细胞中含脱羧酶和Rubisco,分别催化不同的反应而共同完成$CO_2$固定还原。

## 二、$C_4$光合碳代谢途径

### (一) 羧化与还原阶段

进入叶肉细胞的$CO_2$首先在碳酸酐酶催化下形成$HCO_3^-$,再在PEPC催化下,被磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)接受而羧化,形成草酰乙酸(OAA)(图7-11)。

$$CO_2+H_2O \longrightarrow HCO_3^- + H^+$$

$$PEP+HCO_3^- \longrightarrow OAA+HOPO_3^{2-}$$

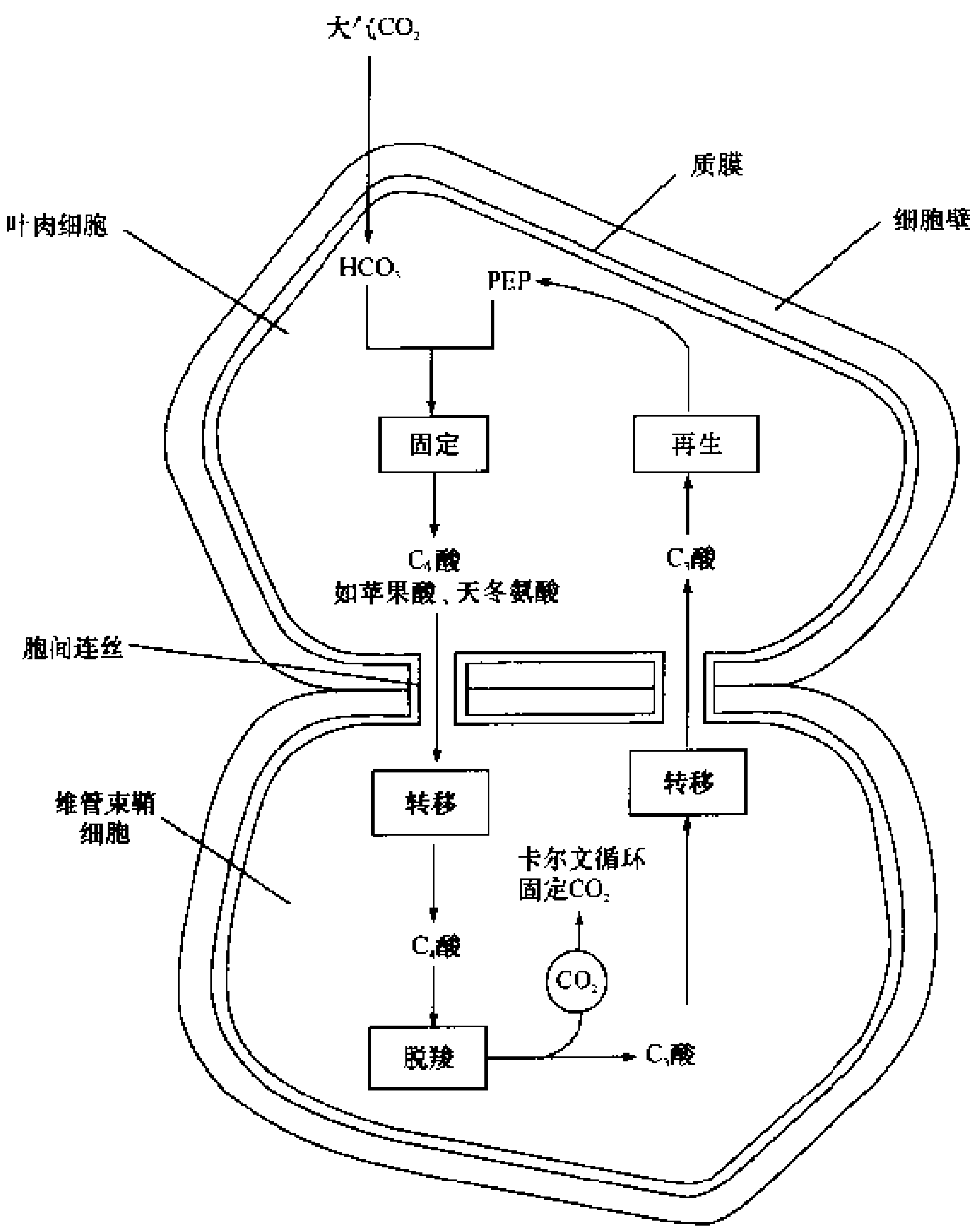



图7-11 在两种类型细胞中进行的$C_4$循环

(Taiz & Zeiger 1998)

与$C_3$途径不同的是:催化此反应的PEPC分布在叶肉细胞的细胞质中,因此,在$C_4$途径中,固定$CO_2$的最初反应不是在叶绿体中而是在叶肉细胞的细胞质中进行的。PEP接受$HCO_3^-$,而不是$CO_2$。

草酰乙酸在叶肉细胞叶绿体中被NADP-苹果酸酶催化还原为苹果酸;也可在细胞质中由天冬氨酸转氨酶催化,经转氨基作用而形成天冬氨酸。

## （二）转移与脱羧反应

在 $C_4$ 植物叶肉细胞与维管束鞘细胞之间有大量胞间连丝，生成的苹果酸或天冬氨酸从叶肉细胞经胞间连丝快速转移到维管束鞘细胞，在这里发生脱羧反应，释放 $CO_2$，在叶绿体中进入卡尔文循环，经过再次固定、还原而形成磷酸丙糖。

根据不同植物形成四碳酸的种类、催化脱羧反应的酶以及脱羧反应发生的部位，又可将 $C_4$ 途径分为三种类型（图 7-12，表 7-1）。

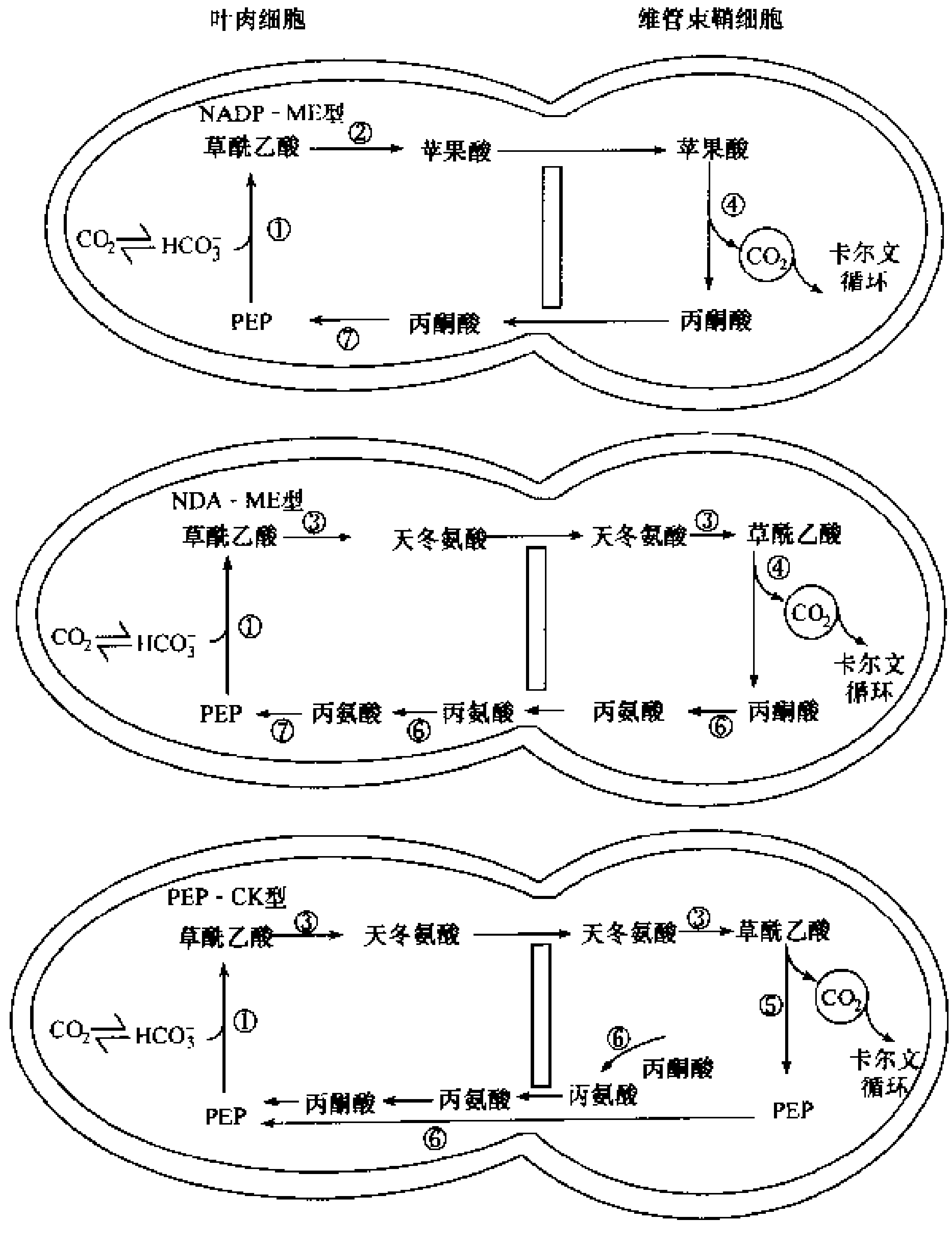



图 7-12 $C_4$ 光合碳同化的三种类型（Taiz & Zeiger 1998）

① PEP 羧化酶 ② NAD-苹果酸脱氢酶 ③ 天冬氨酸转氨酶 ④ NADP-苹果酸酶 ⑤ PEP 羧激酶

⑥ 丙氨酸转氨酶 ⑦丙酮酸磷酸双激酶

**表 7-1 $C_4$ 途径的三种类型**

| 类型 | 转移到维管束鞘细胞的 $C_4$ 酸 | 脱羧酶 | 返回叶肉细胞的 $C_3$ 酸 | 代表植物 |
|---|---|---|---|---|
| NADP-ME | 苹果酸 | NADP-苹果酸酶（位于叶绿体中） | 丙酮酸 | 玉米、甘蔗、高粱 |
| NAD-ME | 天冬氨酸 | NAD-苹果酸酶（位于线粒体中） | 丙氨酸 | 马齿苋、狗尾草 |
| PEP-CK | 天冬氨酸 | PEP 羧激酶（位于细胞质中） | 丙氨酸/丙酮酸或 PEP | 羊草、非洲鼠尾黍 |

**1. NADP 苹果酸酶(NADP-ME)型**

玉米、高粱、谷子、甘蔗、稗、马唐等植物属于这种类型。在维管束鞘细胞的叶绿体中，由 NADP-苹果酸酶催化，苹果酸(Mal)脱羧，生成丙酮酸(pyruvate，Pyr)。$CO_2$进入卡尔文循环，丙酮酸运回到叶肉细胞的叶绿体中，再生 PEP。

$$\text{Mal} + \text{NADP}^+ \longrightarrow \text{Pyr} + \text{NADPH} + CO_2$$

**2. NAD 苹果酸酶(NAD-ME)型**

马齿苋、黍、蟋蟀草、狗尾草等植物的叶肉细胞和维管束鞘细胞中有高活性的氨基转移酶和 NAD-苹果酸酶，而 NADP-苹果酸酶活性低，这类植物固定$CO_2$的最初产物为天冬氨酸，运入维管束鞘细胞，经转氨基作用形成 OAA，再被 NAD-苹果酸脱氢酶还原为苹果酸；在维管束鞘细胞的线粒体中，由 NAD—苹果酸酶催化，苹果酸脱羧，生成丙酮酸，在细胞质中由丙酮酸转氨酶催化成为丙氨酸后运回叶肉细胞，再生 PEP。

$$\text{Mal} + \text{NAD}^+ \longrightarrow \text{Pyr} + \text{NADH} + CO_2$$

**3. PEP 羧激酶(PEP-CK)型**

属于这类植物的有盖氏虎尾草、羊草、大黍、非洲鼠尾粟等植物。在这类植物的维管束鞘细胞的细胞质中有很高的 PEP 羧激酶(PEP-CK)活性。羧化反应生成的天冬氨酸经转氨基作用转化为 OAA，再在 PEP 羧激酶催化下生成 PEP 并释放$CO_2$，而被再固定。

$$\text{OAA} + \text{ATP} \longrightarrow \text{PEP} + \text{ADP} + CO_2$$

### (三) 底物 PEP 的再生

$C_4$酸脱羧后形成的丙酮酸返回到叶肉细胞，在其叶绿体中，由丙酮酸磷酸双激酶(pyruvate phosphate dikinase，PPDK)催化，形成 PEP，又可重新接受$CO_2$。在 NAD-ME 型和 PEP-CK 型中形成的丙氨酸先在叶肉细胞质中转变为丙酮酸，再生成 PEP。

PEP 的再生要利用 ATP 的能量，ATP 水解成为 AMP 而不是 ADP，所以，相当于消耗了 2 个 ATP。因此，在$C_4$途径的运转中，每同化 1 个$CO_2$，多消耗 2 个 ATP，实际消耗 5 个 ATP 与 2 个 NADPH。所以$C_4$途径的运转比$C_3$途径有更高的能量需求。

## 三、$C_4$途径的调节及其生理生态意义

### (一) 光对$C_4$途径中关键酶活性的调节

在$C_4$途径中，PEPC、NADP-苹果酸脱氢酶、PPDK 都是光活化酶。PEPC 是光依赖的磷酸化与去磷酸化调节，当 PEPC 的丝氨酸残基被磷酸化时，酶活化而对底物 PEP 的亲和力高，而其去磷酸化时酶钝化。NADP-苹果酸脱氢酶也是通过叶绿体中的铁氧还蛋白-硫氧还蛋白系统调节巯基氧化还原，光下被还原而活化，暗中氧化而失活。PPDK 的活性通过 PPDK-调节蛋白调节 PPDK 蛋白的苏氨酸残基磷酸化与去磷酸化：其磷酸化的调节是依赖 ADP 而不是 ATP 的，在暗中 ADP 浓度增加时酶蛋白磷酸化而失活；光下 ADP 被用于 ATP 合成而浓度降低，该酶脱磷酸化而活化。

用蛋白质合成抑制剂放线菌素 D 等进行的实验也证明：光也促进 PEPC 及 NADP-苹果酸酶的酶蛋白合成。

### (二) $C_4$途径的生理生态意义

$C_4$植物多起源于热带高温干旱地区，与$C_3$植物比较，其光合速率高，光呼吸低，减少水分丢失，有更大的适应性。$C_3$植物在高温及空气相对湿度较低的环境下，叶片气孔导性下降，$CO_2$进入减少，

Rubisco的加氧酶活性增加，光呼吸上升，光合效率降低。由于$C_4$途径中固定$CO_2$的底物为$HCO_3^-$，PEPC与它的亲和力极高，即使气孔部分关闭，PEPC仍能催化固定较低浓度的$CO_2$，而且没有与$O_2$的竞争反应，因此固定$CO_2$的效率高。又由于在维管束鞘细胞中苹果酸的脱羧反应是一种浓缩$CO_2$的机制，使维管束鞘细胞中有相对高的$CO_2$浓度，促进了Rubisco催化的羧化反应，而抑制了加氧反应，降低了光呼吸。同时，在维管束鞘细胞中形成的光合产物可及时运至维管束，从而避免了光合产物积累可能产生的反馈抑制作用。因此，在高光强与较高温度下，$C_4$植物可产生更多的同化力，有较高的光合效率。但是，$C_4$植物这种"$CO_2$泵"的运转是消耗ATP的，在光强较弱以及温度较低的情况下就体现不出其优势，其光合效率并不一定比$C_3$植物高。

# 第三节　景天酸代谢途径

许多起源于热带的植物，如景天科的景天、仙人掌科的仙人掌、凤梨科的菠萝、兰科的兰花等植物多具肉质茎、叶，叶片表面有较厚的角质层，叶肉细胞有很大的液泡，从形态与结构上对高温干旱有很强的适应性。同时，这类植物在进化中还发展了特殊的碳固定代谢途径——景天酸代谢(crassulacean acid metabolism，CAM)途径，以适应高温干旱的特殊生态环境。已经在26科的几百种被子植物及某些蕨类植物中发现光合碳代谢的CAM途径。

## 一、CAM代谢途径

景天酸代谢植物的叶肉细胞中同时存在PEPC与Rubisco两种酶，因而有两套羧化固定$CO_2$的系统。与$C_4$植物类似，在细胞质中以PEP接受$HCO_3^-$形成苹果酸，而后苹果酸脱羧，$CO_2$进入卡尔文循环，被再次固定。但是，CAM植物的叶片解剖结构不同于$C_4$植物，没有明显的维管束鞘细胞，两类酶都存在于叶肉细胞中，通过酶活性的昼夜调节使羧化反应与$CO_2$再固定分别在夜间和白天完成(图7-13)。

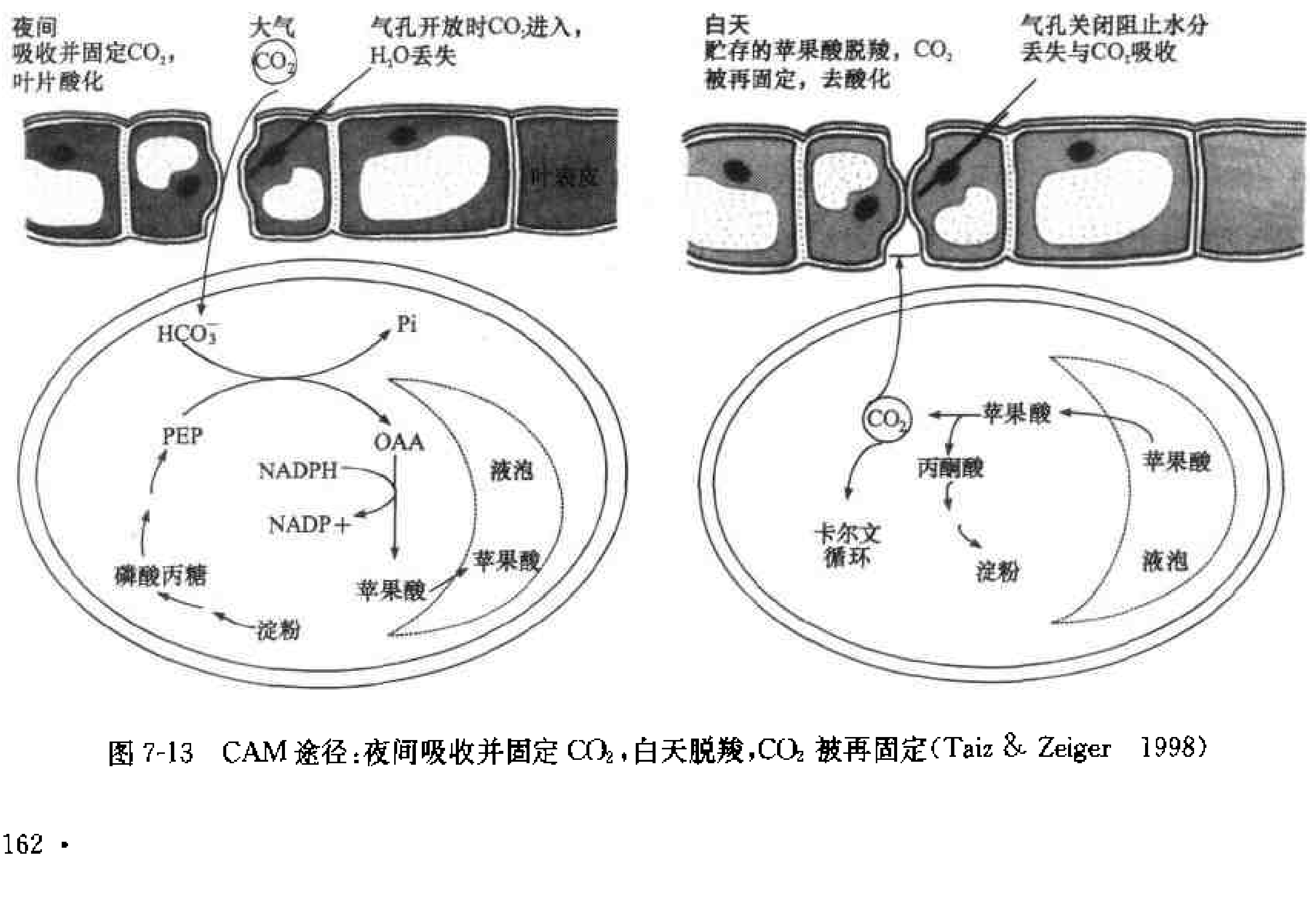



图7-13　CAM途径：夜间吸收并固定$CO_2$，白天脱羧，$CO_2$被再固定(Taiz & Zeiger　1998)

### （一）在暗中进行 PEP 的羧化反应

CAM 植物面临的主要生理问题是如何减少水分丢失以适应高温干旱的生态环境。由于 $CO_2$ 与 $H_2O$ 的出入叶片都要经过气孔，为保存水分、提高水分利用效率，CAM 植物白天气孔关闭，当夜间温度降低、相对湿度升高时气孔才开放。因此，在夜间 $CO_2$ 才能进入叶肉细胞，在细胞质中，由 PEPC 催化，迅速发生羧化反应，PEP 与 $HCO_3^-$ 结合生成草酰乙酸；并在 NADP-苹果酸脱氢酶催化下，将草酰乙酸还原为苹果酸，大量苹果酸暂时贮存在叶肉细胞的大液泡中，其中的苹果酸浓度可高达 0.3 mol/L，此时叶片酸化，并维持较低的渗透势以保存水分。接受 $CO_2$ 的 PEP 来自淀粉或其他多糖经糖酵解途径水解生成。

### （二）在光下完成 $CO_2$ 再固定

白天为避免过度蒸腾失水，CAM 植物叶片气孔关闭，$CO_2$ 不能进入。夜间贮存的苹果酸从液泡转移到细胞质中，被 NADP-苹果酸酶催化脱羧，或由羧激酶催化 OAA 脱羧。释放的 $CO_2$ 进入叶绿体被 RuBP 接受，在卡尔文循环中得以固定。此时，由于气孔关闭，$CO_2$ 不易逃逸出叶片，胞质中相对高的 $CO_2$ 浓度使 Rubisco 发挥较高的催化羧化反应的效率而限制了光呼吸，这也是一种浓缩 $CO_2$ 的机制。苹果酸脱羧后产生的丙酮酸经丙酮酸载体转运进入叶绿体后，被还原为 PEP，再由叶绿体运出到细胞质中，进而转化为磷酸丙糖后可被合成淀粉，所以，白天植物叶片酸度下降。

### （三）CAM 途径的调节

**1. PEPC 的调节**

CAM 植物的 PEPC 与苹果酸脱羧酶同在细胞质中，但在不同的时间执行不同的功能，为避免耗能的无效循环，CAM 植物的 PEPC 表现昼夜周期性活性节奏变化，酶的两种状态经酶蛋白的丝氨酸残基的磷酸化和去磷酸化转换（图 7-14）。夜间，在蛋白激酶催化下，PEPC 被 ATP 磷酸化而活化，对苹果酸抑制作用的敏感性下降，并与 PEP 有高的亲和性；同时，PEPC 的正效应剂 G6P 也在夜间增加，因而有利于催化 PEP 的羧化并大量积累苹果酸。反之，白天在磷酸酯酶作用下，PEPC 的丝氨酸残基去磷酸化，这种状态的 PEPC 对低浓度苹果酸就非常敏感而活性被抑制，同时对 PEP 的亲和性降低而不催化羧化反应。

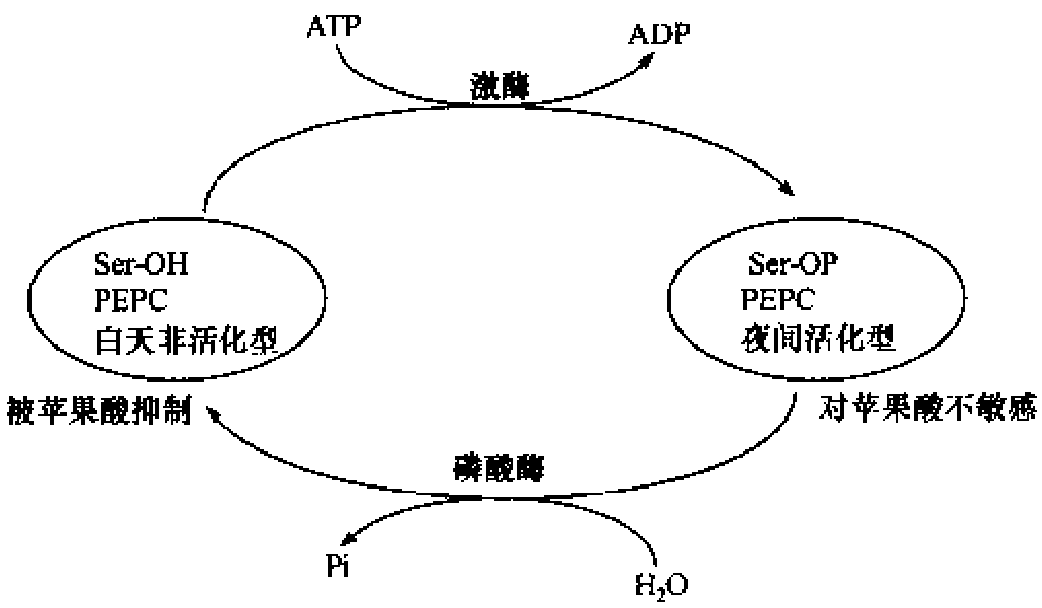



图 7-14 CAM 植物 PEPC 的昼夜周期性磷酸化调节
（Taiz & Zeiger 1998）

**2. CAM 途径的长期调节**

这是指季节周期性对 CAM 碳同化的调节。某些 CAM 植物的碳同化途径随水分供应情况而改变，如冰叶日中花（*Mesembryanthemum erystainium*）在水分充足时，主要经 $C_3$ 途径同化 $CO_2$，在高温、缺水或盐胁迫时又是典型的 CAM 植物，这是胁迫信号导致大量 CAM 基因表达的结果。

## 二、$C_3$、$C_4$ 与 CAM 植物光合特性比较

根据光合碳同化途径，可将植物分为 $C_3$ 植物、$C_4$ 植物和 CAM 植物，它们的光合与生理生态特性

有很大的差异(表 7-2)。

**表 7-2 $C_3$,$C_4$,CAM 植物的光合及生理生态特性比较**

| 特性 | $C_3$植物 | $C_4$植物 | CAM 植物 |
|---|---|---|---|
| 代表植物 | 典型的温带植物,小麦,菠菜,大豆,烟草 | 典型的热带,亚热带植物,玉米,高粱,甘蔗,苋属 | 典型的旱地植物,仙人掌,兰花,龙舌兰,肉质 |
| 叶片解剖结构 | 维管束鞘细胞不发达,内无叶绿体,仅叶肉细胞中一种类型叶绿体。 | 维管束鞘细胞发达,内有叶绿体,具二种不同类型的叶绿体。 | 维管束鞘细胞不发达,叶肉细胞中有大液泡。 |
| 叶绿素 a/b | 约 3:1 | 约 4:1 | 小于 3:1 |
| 碳同化途径 | 一条 $C_3$途径 | 在不同细胞中存在 $C_3$ 和 $C_4$ 二条途径 | 在不同时间的二条途径 |
| 最初 $CO_2$受体 | RuBP | 细胞质中 PEP;<br>维管束鞘细胞中 RuBP。 | 暗中 PEP;光下 RuBP |
| 催化 $CO_2$羧化反应的酶活性 | 高 Rubisco 酶活性 | 在叶肉细胞中有高 PEPC 酶活性;在维管束鞘细胞中有高 Rubisco 活性。 | 暗中有高 PEPC 酶活性;<br>光下有高 Rubisco 酶活性。 |
| 光合初产物 | PGA | 草酰乙酸→苹果酸 | 暗中苹果酸;光下 PGA |
| 光呼吸 | 高光呼吸 | 低光呼吸 | 低光呼吸 |
| 光合最适温/℃ | 较低,约 15~30 | 较高,约 30~47 | ~35 |
| 光饱和点 | 1/4~1/2 日照强度下饱和 | 强光下不易达到光饱和状态 | 同 $C_4$植物 |
| $CO_2$补偿点/l/L | 高 $CO_2$补偿点(40~70) | 低 $CO_2$补偿点(5~10) | ~5,晚上对 $CO_2$有高度亲和性 |
| 光合速率($CO_2$)/[mol/($m^2$·s)] | 10~25 | 25~50 | 1~3 |
| 蒸腾系数及耐旱性 | 大(450~950)<br>耐旱性弱 | 小(250~350)<br>耐旱 | 光照下:150~600;<br>暗中:80~100,极耐旱 |
| 光合产物运输速率 | 相对慢 | 相对快 | 不一定 |
| 光合净同化率/[g/($m^2$·d)] | ~20 | 30~40 | 变化较大 |

不同植物的光合碳代谢途径是进化的结果,是对特定生态环境的适应。$C_4$植物比 $C_3$植物进化;单子叶植物中的 $C_4$植物较多。$C_3$植物在温带分布较多而 $C_4$植物多分布在热带、亚热带,CAM 植物主要分布在干旱沙漠地区。在高光强、高温及相对湿度较低的条件下,$C_4$植物的光合效率比 $C_3$植物高,但在光照弱、温度低的条件下,$C_4$植物的光合效率甚至比 $C_3$植物还低。

不同的碳代谢途径也不可能被绝对分开,常随植物的器官、生育期以及环境条件而变化。

某些植物的解剖结构和光合碳固定的特性介于 $C_3$植物与 $C_4$植物之间,如禾本科的黍属、粟米草科的粟米草属、苋科的莲子草属、菊科的黄菊属、紫茉莉科的叶子花属等。这些植物也具有维管束鞘细胞,但不如 $C_4$植物发达,而叶肉细胞有分化;具有两种催化羧化反应的酶,但不像 $C_4$植物那样 Rubisco 和 PEPC 被严格分开定位在不同的细胞中;$CO_2$同化以 $C_3$途径为主,但也有有限的 $C_4$循环。这些植物的光呼吸也介于 $C_3$与 $C_4$植物之间。目前一般认为,$C_3$-$C_4$中间型植物是从 $C_3$植物到 $C_4$植物的中间过渡类型。

同时,某些植物在环境条件发生变化或发育的不同阶段,也会在 $C_3$与 $C_4$途径间转换。如 $C_3$植物烟草感染花叶病毒后,则在幼叶中出现 $C_4$途径。禾本科的毛颖草在低温多雨地区以 $C_3$途径固定 $CO_2$,而在高温干旱地区则经 $C_4$途径固定 $CO_2$。玉米幼苗叶片具 $C_3$植物的某些特征,至第五叶才具有完全的 $C_4$植物特征;$C_4$植物衰老时,也会出现 $C_3$植物的某些特征。CAM 植物也有专性与兼性之分。光合碳代谢途径的多样性及其相互间的转化也是植物对多变的生态环境的适应性。

# 第四节　蔗糖与淀粉的合成

蔗糖是光合作用的重要产物，是多数植物体内长距离运输碳水化合物的主要形式，也是某些植物如甘蔗、甜菜、胡萝卜等贮藏的主要化合物。淀粉是存在于几乎所有植物中、相对稳定的高分子碳水化合物。蔗糖和淀粉都由在卡尔文循环中产生的磷酸丙糖合成。

## 一、在细胞质中合成蔗糖

### （一）蔗糖磷酸合成酶途径

光合作用中，在叶绿体基质中形成的磷酸丙糖经叶绿体被膜上的磷酸转运器与无机磷交换进入细胞质（图 7-7），磷酸二羟丙酮与磷酸甘油醛在醛缩酶催化下形成果糖-1，6-二磷酸（F-1，6-P），再由果糖-1，6-二磷酸酯酶催化水解形成果糖-6-磷酸（F-6-P），再由磷酸葡萄糖异构酶与变位酶催化形成葡萄糖-6-磷酸与葡萄糖-1-磷酸（G-1-P）。在 UDPG 焦磷酸化酶（UDP glucose pyrophosphorylase）催化下，形成 UDPG 和焦磷酸。UDPG 是葡萄糖的转移体，可将葡萄糖转移到 F-6-P 上，形成蔗糖：

$$\text{G-1-P} + \text{UTP} \rightleftharpoons \text{UDPG} + \text{PPi}$$

在蔗糖磷酸合成酶（sucrose phosphate synthase，SPSase）催化下，UDPG 与 F-6-P 形成蔗糖-6-磷酸：

$$\text{UDPG} + \text{F-6-P} \rightleftharpoons \text{蔗糖-6-磷酸} + \text{UDP}$$

在蔗糖磷酸磷酸酯酶（sucrose phosphate phosphatase，SPPase）催化下蔗糖-6-磷酸水解形成蔗糖：

$$\text{蔗糖-6-磷酸} + H_2O \longrightarrow \text{蔗糖} + \text{Pi}$$

最后一步反应是不可逆的，因而细胞内蔗糖的积累不会抑制蔗糖的继续合成。形成的蔗糖既是较稳定的非还原糖，又贮存了较多的能量（$\Delta G^{\circ\prime} = -25\text{kJ/mol}$），有利于运输和利用。在这条蔗糖合成途径中，果糖-2，6-二磷酸抑制果糖-1，6-二磷酸酯酶的活性，而使 F-1，6-P 转化为F-6-P的过程受抑制，因而蔗糖合成减慢；磷酸丙糖积累到一定浓度时，抑制 F-2，6-P 的合成，从而又加快蔗糖的合成。因此认为，果糖-2，6-二磷酸在蔗糖合成中起重要的调节作用。

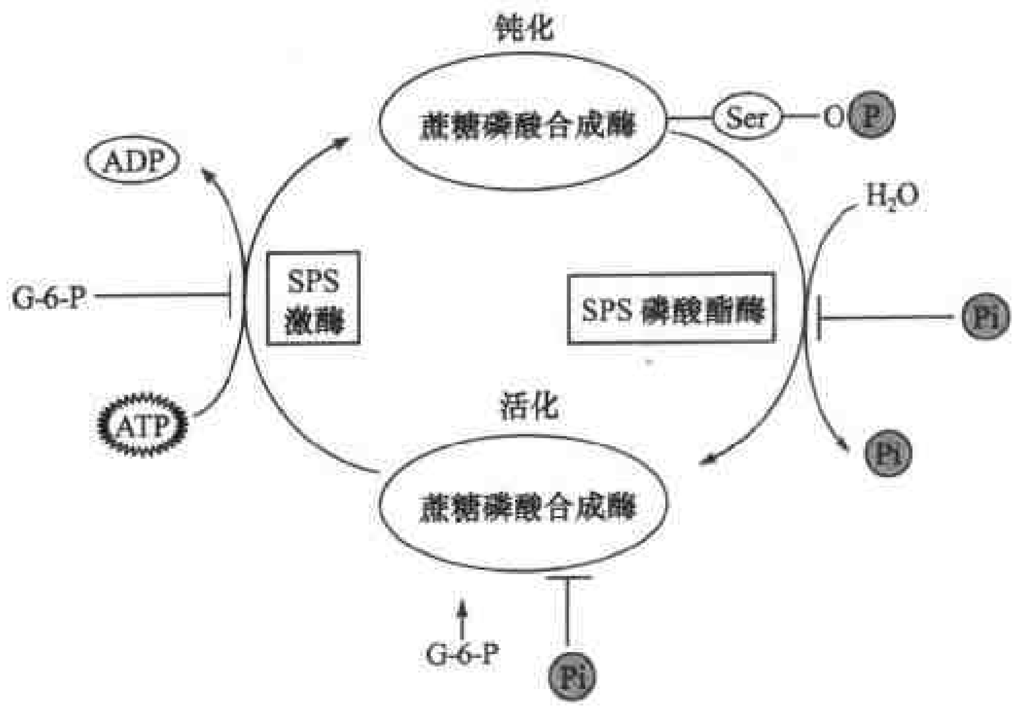



图 7-15　蔗糖磷酸合成酶的变构效应调节及丝氨酸残基的可逆磷酸化调节（Buchanan et al. 2000）

蔗糖磷酸合成酶是另一个重要的调节酶，酶的活性靠共价健修饰和变构调节而对蔗糖合成进行非常灵敏的控制。当 G-6-P 丰富时，抑制 SPS 激酶活性，SPS 的丝氨酸残基去磷酸化而具有高的催化活性；当 G-6-P 减少而 Pi 浓度高时，抑制 SPS 磷酸酯酶活性，维持 SPS 的磷酸化状态而具有低的酶活性（图 7-15）。

### （二）蔗糖合成酶途径

蔗糖合成酶（sucrose synthase）催化蔗糖合成是一可逆反应，细胞中蔗糖浓度较高时，反应向分解方向进行，这个反应被认为是蔗糖分解的途径而不是蔗糖合成的主要途径。果糖抑制其催化分解的活性；$Mg^{2+}$ 能促进蔗糖的合成并抑制蔗糖分解。

$$UDPG + 果糖 \rightleftharpoons 蔗糖 + UDP$$

## 二、在质体中合成淀粉

淀粉在叶绿体中合成后可暂时贮存在叶绿体中，大量葡萄糖聚合成为少量淀粉分子，可能是避免过多溶质存在于叶绿体间质中、造成水分流入而导致叶绿体膨胀破裂的一种保护机制。在贮藏组织中长期贮存淀粉的细胞器是淀粉质体。

在叶绿体中，当磷酸丙糖输出减慢而积累时（图 7-7），在醛缩酶催化下，生成F-1，6-P，再脱磷酸成为 F-6-P 后转化为 G-6-P 和 G-1-P。由 ADPG 焦磷酸化酶（ADP glucose pyrophosphorylase，AGP）催化形成作为葡萄糖供体的 ADPG：

$$G\text{-}1\text{-}P + ATP \longrightarrow ADPG + PPi$$

再由淀粉合成酶（starch synthase）催化 ADPG 分子中的葡萄糖转移到（1→4）葡聚糖引物的非还原末端，如此不断延长，而形成长链的直链淀粉（amylose）。

$$ADPG + (葡萄糖引物)_n \longrightarrow ADP + (葡萄糖引物)_{n+1}$$

ADPG 焦磷酸化酶是一个关键的调节酶，被磷酸丙糖活化而被 Pi 抑制。当卡尔文循环运转正常、磷酸丙糖丰富时，酶活性高；而在光合磷酸化减慢、叶绿体中 Pi 水平上升时，酶活性降低，淀粉合成被抑制。

支链淀粉（amylopectin）是由分支酶催化形成 $\alpha$-1，6 糖苷键的分支葡聚糖链，其分子质量可不断增大，贮存更多的能量。$\alpha$-1，6 糖苷键的导入使分子的非还原性末端增加，也有利于 ADPG 焦磷酸化酶和淀粉合成酶催化的反应，使之合成更多的淀粉。

## 三、同化物在叶绿体与细胞质间的分配

在叶绿体中经光合碳同化形成的磷酸丙糖作为共同的底物，转化为两种主要的碳水化合物，在胞质中合成蔗糖，在叶绿体中合成淀粉，这是一种细胞内区域化的竞争机制的调节（图 7-16）。因磷酸丙糖的运出经叶绿体内膜上的磷酸转运器与 Pi 交换（图 7-7），因此，磷酸丙糖的分配取决于胞质与叶绿体中各自无机磷酸的浓度。当光合作用活跃时，大量合成磷酸丙糖，磷酸丙糖经磷酸转运器与无机磷酸交换而进入胞质的速率增加，就会降低胞质中 Pi 的水平；而此时如果胞质中 Pi 浓度低，磷酸丙糖滞留在叶绿体中，合成淀粉暂时贮存。在夏天高光强、长日照时，常常可观测到叶绿体中积累淀粉，非光合细胞淀粉体中也有淀粉积累，即因为高光强时，3-PGA 大量形成活化 ADPG，而且由于光合磷酸化 ATP 形成使 Pi 减少，所以磷酸丙糖运出减少，因而在叶绿体中合成淀粉（图 7-17）。由此可见，Pi 在叶绿体与细胞质

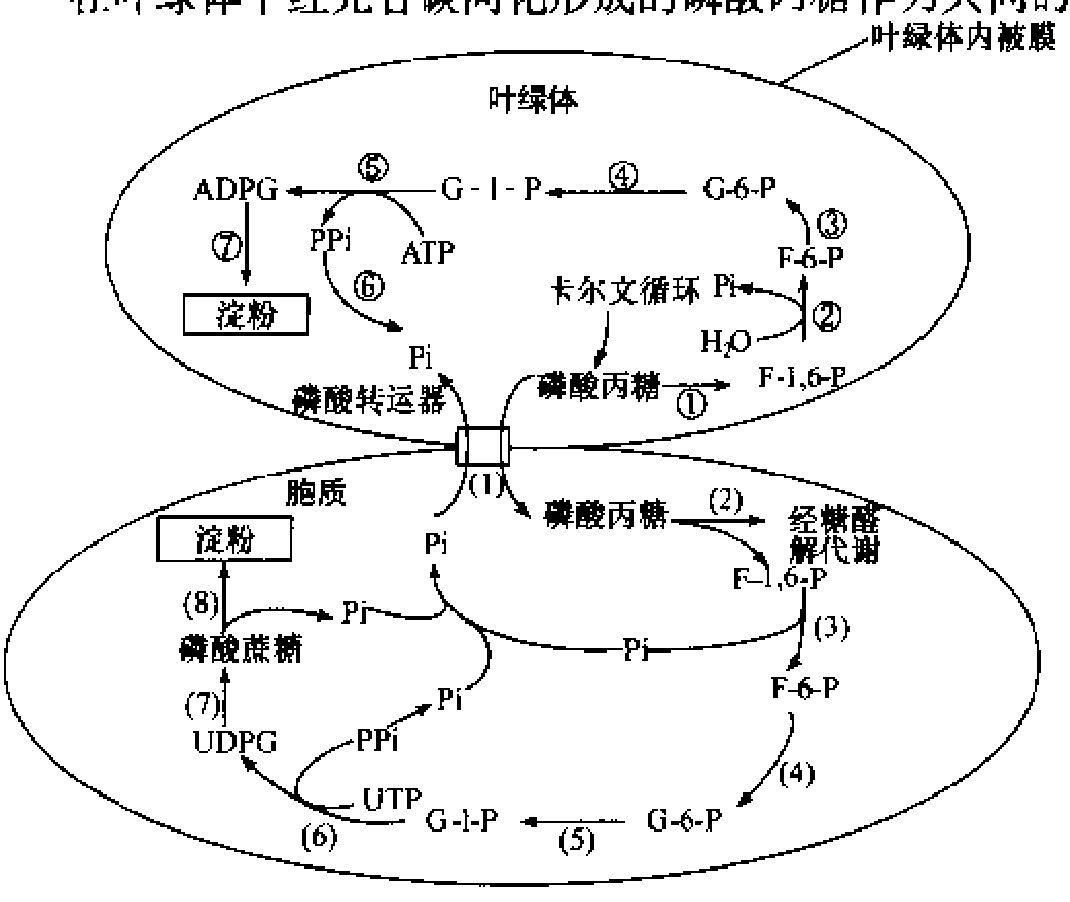



图 7-16　细胞内不同区域合成蔗糖与淀粉的竞争
（Taiz & Zeiger　1998）

① 醛缩酶；② FBP；③ 磷酸乙糖异构酶；④磷酸葡萄糖变位酶；⑤ ADP-葡萄糖焦磷酸化酶；⑥ 焦磷酸酶；⑦淀粉合成酶；(1)磷酸转运器；(2)醛缩酶；(3)FBP 酯酶；(4)淀粉合成酶；(5)磷酸葡萄糖变位酶；(6)UDPG-葡萄糖焦磷酸化酶；(7)蔗糖磷酸合成酶；(8)蔗糖磷酸酯酶。

间有效的再循环，对维持光合作用的正常运转是必须的。

近来的研究表明，在夜间，叶绿体中的淀粉被淀粉酶水解，产生的己糖由叶绿体输出到胞质，可能也是一种重要的调节。

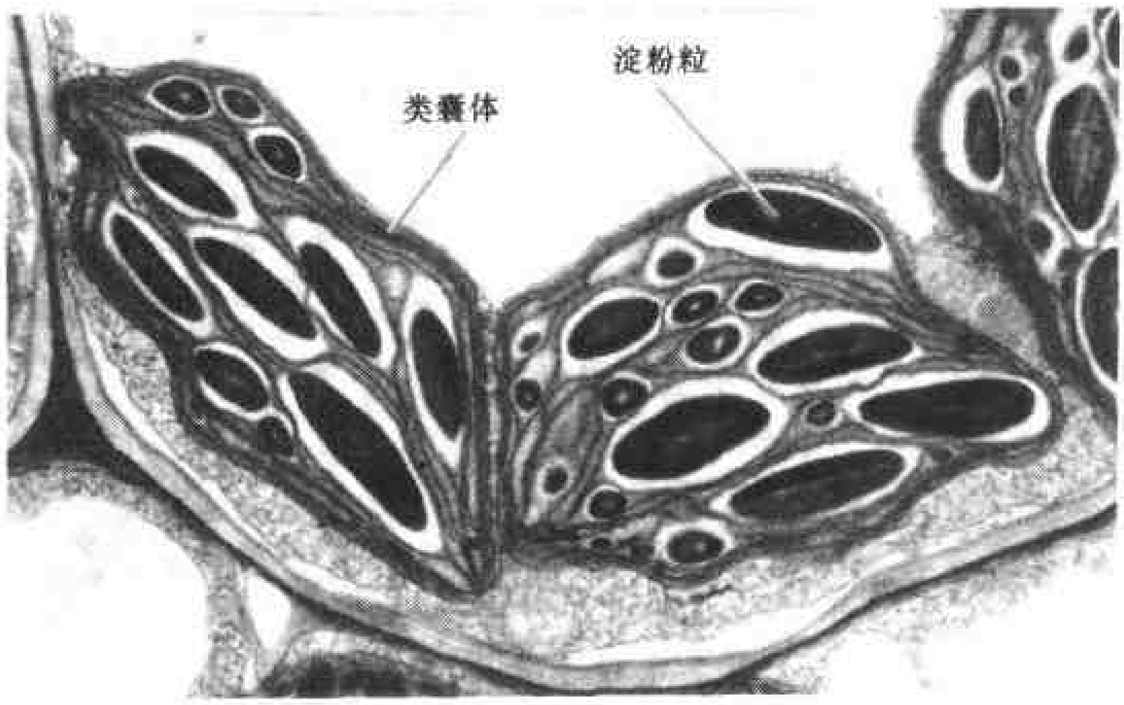



图 7-17 玉米维管束鞘细胞电镜照片显示叶绿体中的淀粉粒
(Taiz & Zeiger 1998)

# 第五节 光合作用生态生理

## 一、植物的光合速率

### (一) 光合速率

光合速率(photosnythetic rate)指单位时间、单位叶面积吸收 $CO_2$ 的量或释放 $O_2$ 的量。常用单位有：$CO_2$ 吸收量[$\mu mol/(m^2 \cdot s)$]，$O_2$ 释放量[$\mu mol/(m^2 \cdot s)$]。也可用单位叶面积、单位时间积累的干物质量表示：$mg/(dm^2 \cdot h)$。

在表示田间群体或整株植物的光合生产率时还常用净同化率(net assimilation coefficient)表示，即积累干重 $g/(m^2 \cdot d)$。

植物在进行光合作用积累物质的同时，也在不断地进行呼吸作用消耗有机物并释放 $CO_2$，当测定光合速率时，一般得到的是实际光合速率与呼吸速率之差，被称为表观光合速率(apparent photosynthesis rate)，或称净光合速率(net photosynthesis rate)。如果在测定光合 $CO_2$ 吸收量的同时，测定呼吸释放 $CO_2$ 的量，并加以校正，即得到实际总的光合速率或称真正光合速率。

### (二) 光合速率的测定

目前常用 $CO_2$ 红外线气体分析仪测定植物叶片的光合速率与呼吸速率。因 $CO_2$ 对红外线有较强的吸收，$CO_2$ 量与红外线吸收间有线性关系，通过叶室的气流中 $CO_2$ 的变化，吸收红外线变化，转换为电讯号，放大后测定并记录，得到叶片的光合速率。也可用便携式光合测定仪在田间直接测定叶片的光合速率。

也常用氧电极来测定离体叶绿体光合作用氧的释放，通过检测叶绿体缓冲液中溶解氧的浓度变化，光合作用释放的氧量多则溶氧量高，可以电流值记录光合放氧量以及希尔反应活性。此法也可测定离体线粒体的呼吸速率。

还可用简便的称重法即改良半叶法测定单位时间、单位叶面积干重的增加，可知光合产物的积累量。此法虽不够精确但简便易行，在田间选取对称性好的叶片，一半遮光或剪下，另一半留在植株上

进行光合作用，用药剂处理叶柄以阻止光合产物外运，一定时间后，将两半片叶片分别烘干并称重，计算干重的增加。

## 二、影响光合作用的因素

在自然条件下，光合作用是植物整个生命活动的重要生理过程，受多种内、外因子的影响。在同样条件下，不同植物光合速率不同，这是其固有的遗传特性决定的；同一植株的不同发育阶段、不同叶龄叶片的光合速率不同，随小叶长大，光合速率增加，随叶片衰老又渐降低，这主要与叶绿体的发育、叶绿素含量变化以及 Rubisco 酶活性变化有关。同时，光合作用也受同化器官与消耗、贮藏器官间的协调关系影响，即受供需关系调节，需要量大时，促进叶片光合速率，而去掉花果等消耗、贮藏器官，由于光合产物的积累对光合速率的反馈抑制，叶片光合速率就会降低。

在农业生产中，当选用一定品种后，光合速率主要受光照、$CO_2$、温度、水分、矿质营养等环境因子的影响。

### （一）光对光合作用的影响

**1. 叶片对光的适应**

叶片作为吸收、转化光能的器官，高度特化的解剖结构适于捕获更多的光能，并能随时进行调节。首先，叶片表皮细胞可透光并起到类似凸透镜的聚光作用，使到达叶肉细胞中叶绿体的光增强了许多倍。叶片上表皮细胞下是一或几层较紧密纵向排列的栅栏组织细胞，可以有效地吸收光。透过栅栏组织细胞及其间隙的光再被不规则松散排列的海绵组织细胞所截获，在这些细胞间有较大的空隙，所造成的空气-水界面产生光散射效应，增加了光被吸收的可能性。许多植物还通过改变叶片与日光的角度来调节对光的吸收；叶绿体的运动也是对光的吸收的调节，当光线弱时，叶绿体集中排列于与光平行的细胞面，而光强时，叶绿体沿与入射光平行的侧面排列，由此可以使叶片吸收的光减少 15%。

在强光或遮阴的环境中生长的植物在叶片形态结构、叶绿素含量，光合酶活性方面都有其对光适应的不同特征（图 7-18）。阳生植物的叶片厚，栅栏组织细胞长而且层数多，而阴生植物叶片较大且

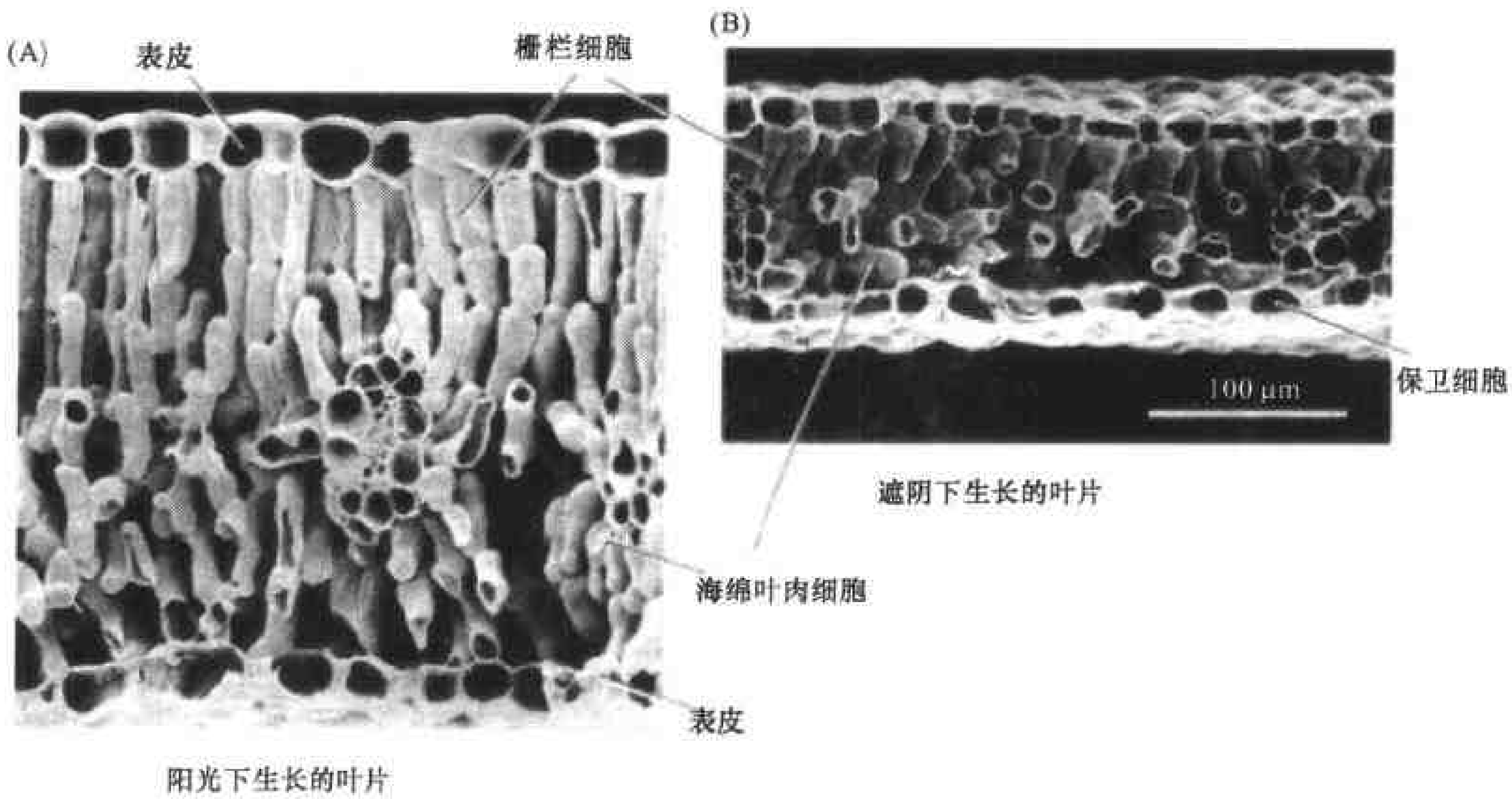



图 7-18　生长在不同光照条件下的豆科植物叶片解剖电镜扫描图（Taiz & Zeiger　1998）
（A）阳光下生长的叶片；（B）遮阴下生长的叶片。

薄。阴生植物叶片叶绿体具有较大的基粒与更多的片层结构；每个反应中心含更多的叶绿素分子，有较高的叶绿素 a/b 比值；其 PSII 反应中心与 PSI 反应中心量为 3 ∶ 1，而阳生植物为 2 ∶ 1。所有这些特征有助于阴生植物叶片吸收和转换光能。阳生植物叶片叶绿体中含更多的可溶性蛋白，尤其是 Rubisco 和叶黄素循环成分，因而能更充分利用同化力、有更高的碳同化能力。

**2. 光对叶片光合速率的影响**

光是叶绿素生物合成及叶绿体发育的必要条件，是光合作用的原动力。光合碳同化过程中许多光合酶的活性受光的控制，照光还会影响其他环境因子，因此光对光合速率有最深刻和多方面的影响。

通过在不同光强下测定光合速率，可以做出光合作用的光强-光合速率曲线图（图 7-19）。植物在暗中不进行光合作用，可以测得呼吸释放的 $CO_2$ 量，随光强增加，光合速率迅速上升，当达到某一光强，叶片光合速率等于呼吸速率时，即吸收的 $CO_2$ 与释放的 $CO_2$ 相等，此时测定表观光合速率为零，这时的光强称为光补偿点（light compensation point）。生长在不同环境中的植物光补偿点不同，一般来说，阳生植物光补偿点较高，约为 10～20 μmol/(m² · s)；阴生植物的呼吸速率较低，其光补偿点也低，约为 1～5 μmol/(m² · s)。所以在光强有限条件下，植物生存适应的一种反应是低光补偿点，即能更充分地利用低强度光（图 7-20）。

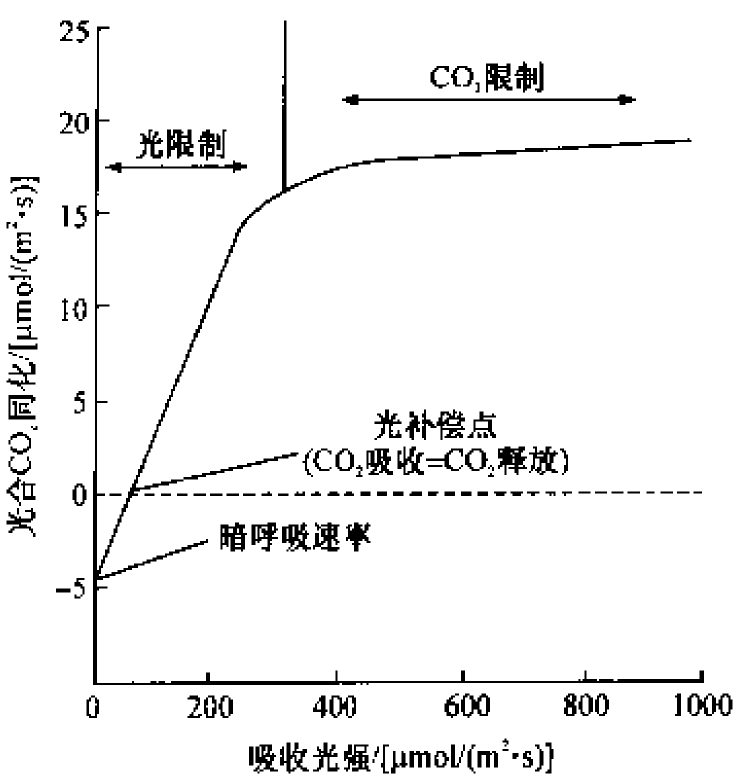



图 7-19 $C_3$ 植物光合速率与光辐射强度的关系曲线（Taiz & Zeiger 1998）

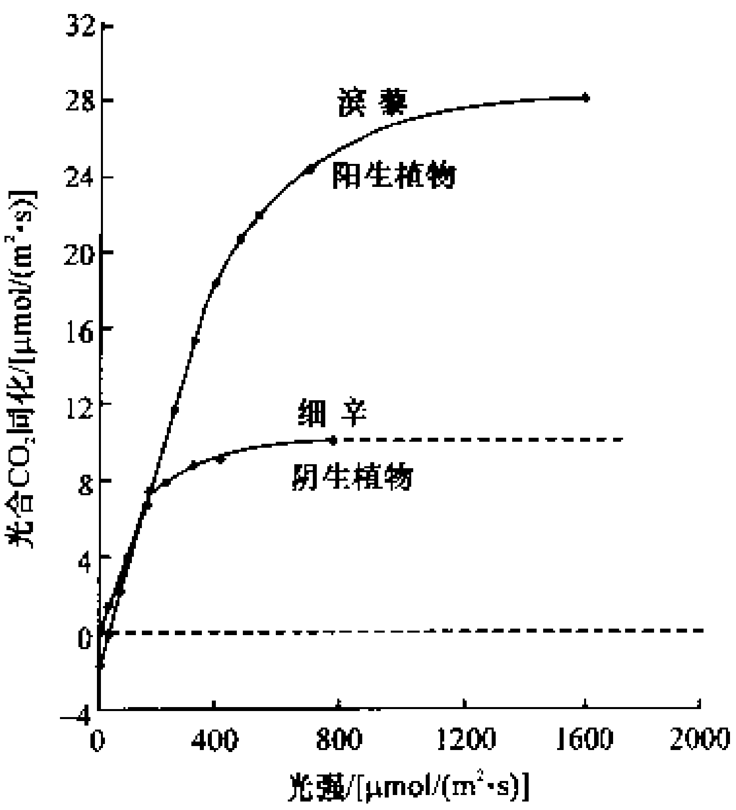



图 7-20 阳生植物和阴生植物的光合速率与光照强度的关系曲线比较（Taiz & Zeiger 1998）

在光补偿点以上的一定光强范围内随着光强的增加，光合速率呈正比迅速上升，表明在此光强范围内，光强是光合作用的主要限制因子。当超过一定光强时，光合速率的增加减慢，达到某一光强时，光合速率不再增加，而表现出光饱和现象。这时的光强称为光饱和点（light saturation point）。出现光饱和现象一方面可能是叶片来不及吸收和利用高强度的光；更主要的是 $CO_2$ 同化过程的一系列酶促反应速度跟不上而成为光合速率的限制步骤（图 7-19）。

多数植物的光饱和点在 500～1000 μmol/(m² · s)，但不同植物的光饱和点也有很大差异，一般阳生植物的光饱和点高于阴生植物（图 7-20），$C_4$ 植物的光饱和点高于 $C_3$ 植物。在一般光照下，$C_4$ 植物没有明显的光饱和现象，这是由于 $C_4$ 植物同化 $CO_2$ 消耗更多的同化力，而且可充分利用较低浓度的 $CO_2$。而 $C_3$ 植物的光饱和点仅为全光照的 1/4～1/2。所以在高温高光强下，$C_3$ 植物光合速率到一定程度不再增加，出现光饱和现象，而 $C_4$ 植物仍保持较高的光合速率，在利用日光能方面优于 $C_3$ 植物。

植物的光补偿点和光饱和点随其他环境条件变化而变化。当 $CO_2$ 浓度增高时，光补偿点降低而光饱和点升高；温度升高时，光补偿点升高。植物的光补偿点和光饱和点显示了植物叶片对强光和弱光的利用能力，代表了植物的需光特性和需光量，即可利用光的上下限。在选用某地区栽培作物品种及正确选择间种、套作的作物以及林带树种搭配方面，在决定作物的密植程度方面有重要的参考价值。要想提高产量，从光量方面可考虑如何降低作物的光补偿点，而提高作物的光饱和点，以最大限度地利用日光能。

光合作用也与光质有关，在可见光谱范围内，不同波长的光的光合量子效率不同。由于叶绿体色素的吸收高峰在红光和蓝紫光部分，所以在能量相等时，红光、蓝光效率高于黄绿光。另外，光合作用依赖于 PSI 与 PSII 间的协调运转，光质影响两个光系统的状态及光能的分配而影响光化学效率。

**3. 光对光合速率的抑制**

当叶片接受的光能超过它所能利用的光量时，光合活性降低，光合作用被抑制，这种现象是光合作用的光抑制（photoinhibition）。其显著特点是 PSII 光化学效率降低和光合碳同化的量子效率降低。在光强超过光饱和点的晴天中午，小麦、水稻、棉花、大豆等许多 $C_3$ 植物都呈现光抑制，表现光合速率下降，出现"光合午休"现象。主要因为在干热的中午，叶片萎蔫、气孔导性下降，$CO_2$ 吸收减少，在这种情况下，光呼吸增强，产生光抑制。"光合午休"可使光合生产损失 30%。

强光伤害严重时会导致叶片失绿，丧失光合活性。目前认为产生光抑制的重要原因是光反应中心受损而使光合活性下降。对于光的破坏作用，植物具有多种保护机制：植物常通过叶片及叶绿体运动来避开强光直射；叶片表面的蜡质层和表皮毛等可反射光，以避免吸收过多的光。植物也会加强热耗散过程；光呼吸也可耗散过多的能量；植物也通过增加活性氧清除系统如超氧歧化酶（SOD）、谷胱甘肽还原酶等的量与活性来保护。同时加强光系统的修复循环来保护光合机构，避免过强光的伤害。

## （二）$CO_2$

$CO_2$ 是光合作用的原料。大气中 $CO_2$ 经叶片表面的气孔进入细胞间隙，再进入叶肉细胞叶绿体。在 $CO_2$ 扩散的途径中，受到叶片表面的水气界面层阻力、气孔阻力、细胞间隙阻力和进入叶肉细胞及叶绿体的阻力（图7-21）。其中主要的阻力在气孔，气孔的开度直接影响 $CO_2$ 的进入量而控制着光合

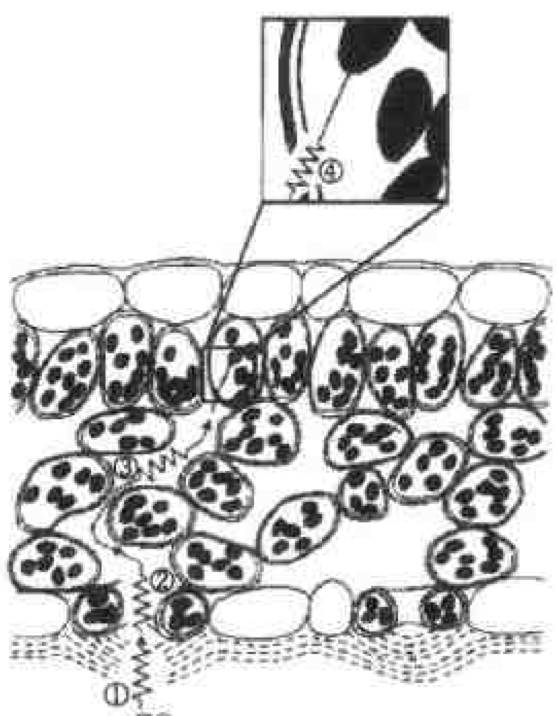



图 7-21　大气 $CO_2$ 扩散进入叶绿体的阻力（Taiz & Zeiger　1998）

①叶片表面水气界面层阻力；②气孔阻力；③细胞间隙扩散阻力；④叶肉细胞阻力。

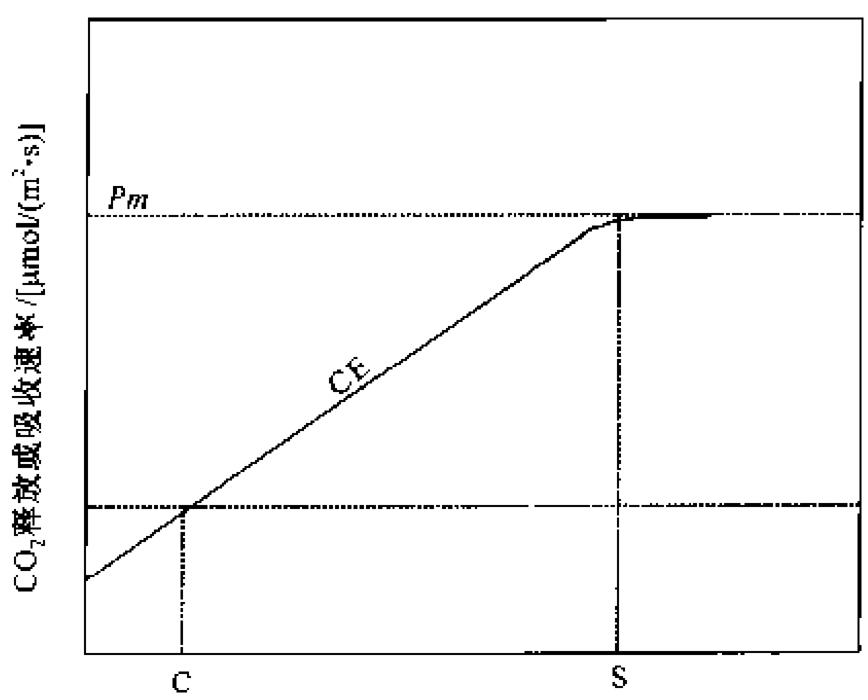



图 7-22　叶片光合速率对细胞间隙 $CO_2$ 浓度响应的示意图（王忠等　1999）

C：$CO_2$ 补偿点；S：$CO_2$ 饱和点；CE：斜率表示羧化效率；$Pm$：最大光合速率。

作用。

大气中的$CO_2$浓度为0.03%，一般都不能满足植物光合作用的需求，所以在温度适宜、无风、光照较强的晴朗天气里，植物往往处于$CO_2$"饥饿"状态。$CO_2$经常是光合作用的限制因子(图7-22)，随着$CO_2$浓度增加，光合速率增加，当植物光合作用吸收的$CO_2$量与呼吸作用和光呼吸释放的$CO_2$量达到动态平衡时环境中的$CO_2$浓度叫$CO_2$补偿点($CO_2$ compensation point)(图7-22:C)。当$CO_2$浓度进一步提高时，植物的光合速率快速上升，呈线性变化，这时直线的斜率(图7-22:CE)反映了Rubisco的量的多少与酶活性的大小，被称为羧化效率(carboxylation efficiency)。如果CE较大，表明在较低的$CO_2$浓度下，有较高的光合速率，其羧化效率高。但到一定程度时，再增加$CO_2$浓度光合速率不再增加，这时环境中的$CO_2$浓度称为该植物的$CO_2$饱和点($CO_2$ saturation point)(图7-22:S)。当到达$CO_2$饱和点时，光合速率到达最大，这时的光合速率反映了光合电子传递和光合磷酸化的活性，被称为光合能力(图7-22:*Pm*)。

不同植物的$CO_2$饱和点与补偿点不同，特别是$C_3$植物和$C_4$植物有较大的区别。一般$C_4$植物的$CO_2$饱和点比$C_3$植物低。$C_4$植物的$CO_2$补偿点也比$C_3$植物低(图7-23)。如$C_3$植物小麦的$CO_2$补偿点约为50μl/L左右；而$C_4$植物玉米的$CO_2$补偿点约0～5μl/L。因此，在低$CO_2$浓度时，$C_4$植物的光合效率高于$C_3$植物。为什么$C_3$植物与$C_4$植物的$CO_2$补偿点会有如此大的区别？主要在于它们固定$CO_2$的羧化酶不同，$C_4$植物的PEPC与叶肉细胞胞质中的$HCO_3^-$的亲和力较高，而且经苹果酸形成而浓缩$CO_2$，降低了维管束鞘细胞中的光呼吸，因而能更充分地利用低浓度$CO_2$进行光合作用，所以$CO_2$补偿点明显低于$C_3$植物。

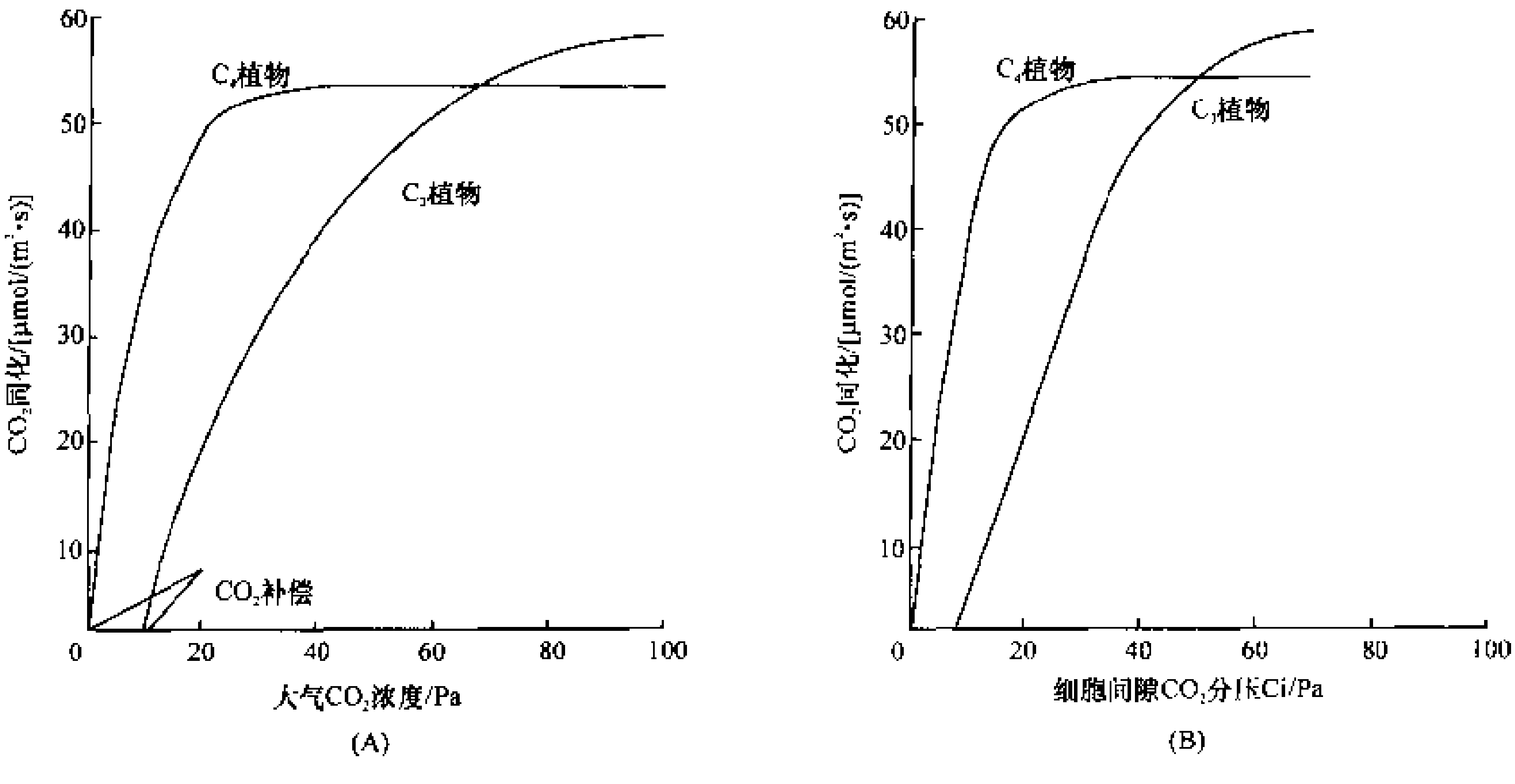



图7-23 $C_3$植物和C4植物的光合速率与大气(A)或细胞间隙(B)$CO_2$浓度的关系曲线(Taiz & Zeiger 1998)

$CO_2$补偿点也受其他环境因素的影响，在温度升高、光照较弱、水分亏缺等条件下，$CO_2$补偿点上升，光合作用下降。在温室栽培中，加强通风、增施$CO_2$可防止植物出现$CO_2$"饥饿"；在大田生产中，增加有机肥，经土壤微生物分解释放$CO_2$，能有效地提高作物的光合效率。

目前，由于人类的活动，使地球上空气中的$CO_2$浓度持续上升，这虽然可能减轻由于$CO_2$缺乏对植物光合作用的限制，但也导致了温室效应(greenhouse effect)，温度升高会给地球的生态环境及人类活动带来一系列严重的问题。

## （三）温　　度

任何一个生理过程几乎都与温度紧密相关，而植物自身调节温度的能力比动物弱得多，因此受环境温度的影响较大。光合碳代谢过程是一系列酶促反应，温度更是一个重要条件。温度主要影响酶活性，进而影响生化反应，温度也影响叶绿体超微结构、气孔的开闭及呼吸速率等。

植物可以在一个较大的范围内进行光合作用，在一定温度范围内，随温度变化，光合速率表现"钟形"曲线（图 7-24，图 7-25），有光合作用的最适温度、最高温度和最低温度，即光合作用的温度三基点（表 7-3）。温度数值因不同植物而异，一些耐寒的植物如地衣在－20℃还能进行光合作用，而一些热带的植物光合作用的热限高达 50～60℃。

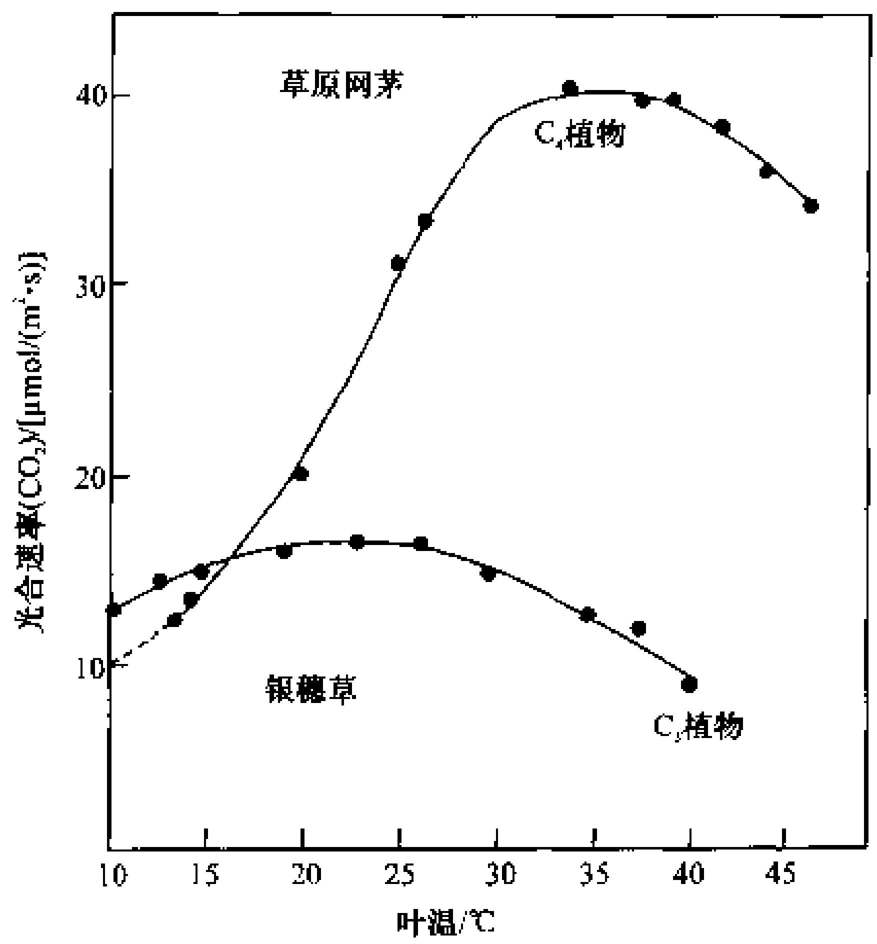



图 7-24　$C_3$植物和 $C_4$植物的光合速率与温度的关系曲线（Salisbury & Ross　1992）

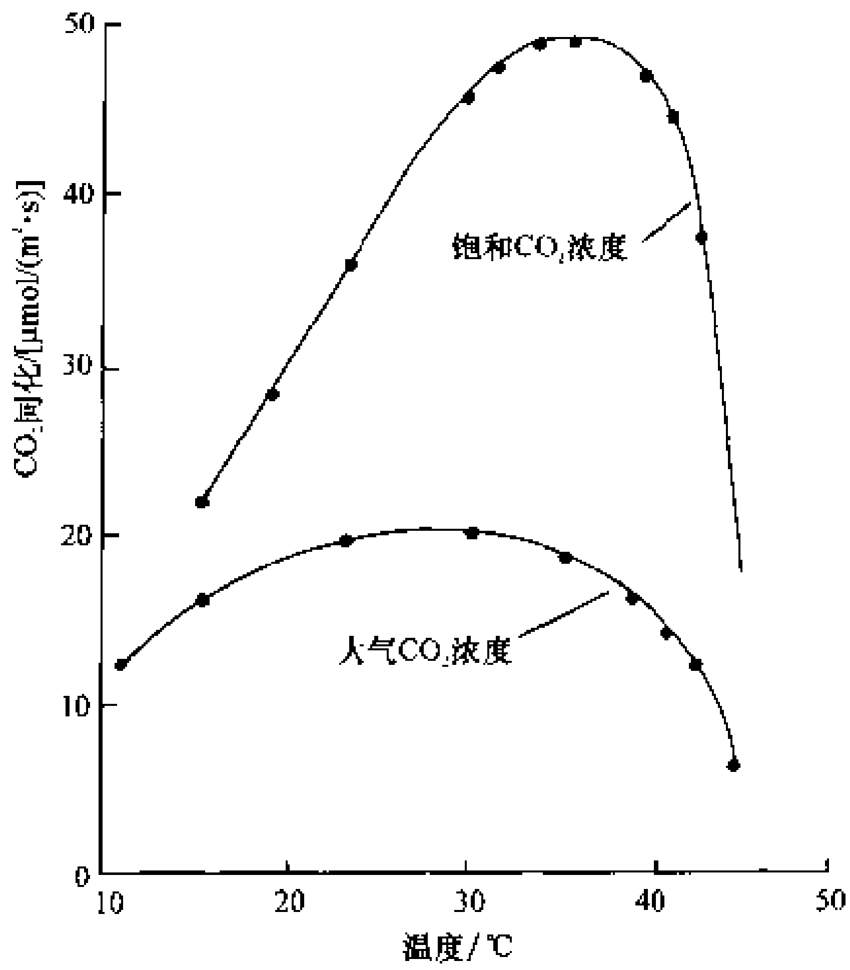



图 7-25　不同 $CO_2$ 浓度下温度对光合速率的影响（Taiz & Zeiger　1998）

**表 7-3　在自然 $CO_2$ 浓度和光饱和条件下，不同植物净光合作用的温度三基点/℃**

| 植物类型 | | 最低温度 | 最适温度 | 最高温度 |
|---|---|---|---|---|
| 草本植物 | 热带 $C_4$植物 | 5～7 | 35～45 | 50～60 |
| | $C_3$农作物 | －2～0 | 20～30 | 40～50 |
| | 阳生植物（温带） | －2～0 | 20～30 | 40～50 |
| | 阴生植物 | －2～0 | 10～20 | 约为 40 |
| | CAM 植物（夜间固定 $CO_2$） | －2～0 | 5～15 | 25～30 |
| | 春天开花植物和高山植物 | －7～－2 | 10～20 | 30～40 |
| 木本植物 | 热带和亚热带常绿阔叶乔木 | 0～5 | 25～30 | 45～55 |
| | 干旱地区硬叶乔木和灌木 | －5～－1 | 15～35 | 42～55 |
| | 温带冬季落叶乔木 | －3～－1 | 15～25 | 40～45 |
| | 常绿针叶乔木 | －5～－3 | 10～25 | 35～42 |

温度对光合作用的影响与植物种和生长环境温度等有关，在高温下生长的植物的最适温度比在低温下生长的植物高。$C_3$植物与$C_4$植物对温度变化的反应不同（图 7-24），随着温度升高，$C_3$植物的光合速率变化较平缓，而$C_4$植物变化要大得多。虽然在温度升高时，光合速率升高，但同时溶解$O_2$与$CO_2$的比值加大，$C_3$植物的光呼吸明显加强而抵消了温度升高对光合作用的促进；$C_4$植物光呼吸弱，所以其最适温度比$C_3$植物高。

温度对光合作用的影响多是因为影响了酶反应速度。温度低时，光合酶活性低，$CO_2$同化减慢，淀粉与蔗糖的合成减少，对磷酸丙糖的需求量下降，进入叶绿体的无机磷酸减少，同化力的合成受到限制。温度高时，由于呼吸作用的最适温度比光合作用的高，当光合作用不再升高时，呼吸作用继续升高而使净光合速率下降。同时，温度过高时，酶钝化，光合机构受损，而导致光合速率迅速下降。昼夜温差大时，有利于净光合产物的积累，白天的较高温度下植物有高的光合速率，而夜间温度较低时可减少呼吸消耗，因而可积累更多的物质。

在不同$CO_2$浓度下，温度对光合作用的影响也有所不同（图 7-25），低$CO_2$浓度下，温度升高的促进作用也被光呼吸所抵消，而在高$CO_2$浓度下，由于抑制了光呼吸，温度成为光合作用的主要限制因子，因而表现出明显的温度促进作用。

## （四）水　　分

水也是光合作用的原料，没有水就不能进行光合作用。但是，与同是光合作用原料的$CO_2$相比，用于光合作用的水仅为植物从土壤吸收或蒸腾失水的1%以下，一般而言，不会由于作为光合作用原料的水的供应不足而影响光合作用。

缺水时，首先是气孔开度减小，气孔阻力增大，一方面减少水分丢失，同时也影响$CO_2$进入，而使光合作用的原料$CO_2$缺乏，光合速率下降。由于气孔对水分状况非常敏感，气孔的开闭运动是快速而可逆的、可调控的过程，随缺水与恢复供水，叶片水势、气孔导度、蒸腾速率和光合速率都发生明显的下降与恢复（图 7-26）。从这一点讲$C_4$植物比$C_3$植物更抗干旱，因为$C_4$植物胞质中的 PEPC 与$CO_2$的亲和力高，能充分利用低浓度的$CO_2$，它有浓缩的$CO_2$机制，在气孔开度减小时仍能保持维管束鞘细胞中有充分的$CO_2$，促进 RuBP 羧化酶催化的羧化反应。

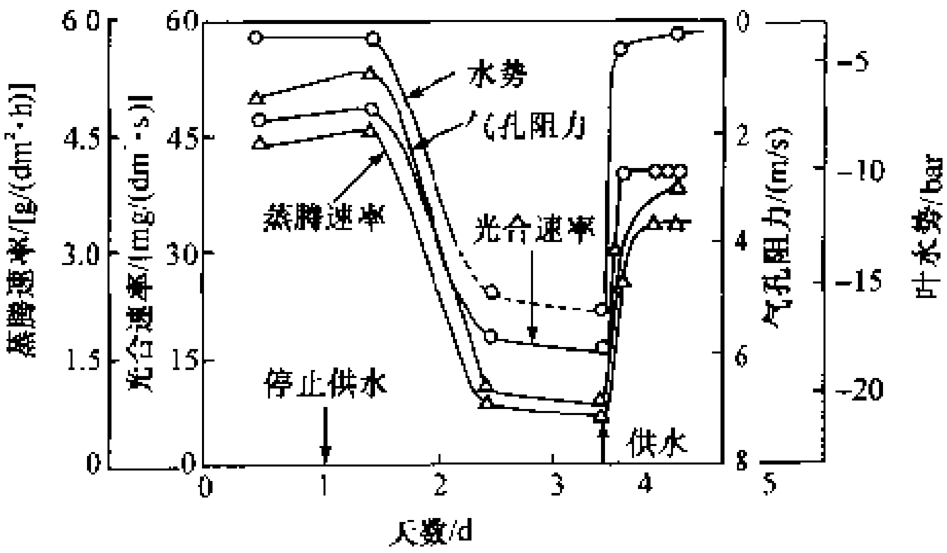


图 7-26　向日葵在严重缺水及复水过程中叶片水势、光合速率、气孔阻力、蒸腾速率的变化（王忠等　1999）

另外，水分亏缺时，一些水解酶活性增加，也不利于糖的合成。缺水还影响细胞伸长生长并抑制蛋白质合成，甚至水解部分蛋白质，因此使光合面积减小，而限制了植物的光合作用。在较严重缺水时，光合机构受损，电子传递速率下降，光合磷酸化解偶联，影响同化力的形成。在严重缺水时，叶绿体片层结构受到破坏，叶片光合能力不再能恢复。

水分过多时，也会因土壤通气不良，根系发育不好或根系活力降低而间接影响光合作用。

## （五）矿质营养

对于光合作用来说，矿质营养的作用主要是扩大光合面积，延长光合时间，提高光合能力。可在如下方面起作用：

N、P、S、Mg 等元素是叶绿素的组分及叶绿体组成成分，其中 N 元素与叶绿素含量、叶绿体发育、

光合酶活性的关系都很大，所以氮素营养对光合作用的影响最为显著；Fe、Mn、Cu、Zn 等作为酶的辅基或活化剂而影响叶绿素的生物合成。在光合电子传递链中，主要的电子传递体是含 Cu、Fe 的蛋白质；Mn、Cl 作为放氧复合体的成分参与 $H_2O$ 的光介；光合作用中同化力 ATP 和 NADP 的形成及许多中间磷酸化合物都需要无机磷酸；K、Ca 影响气孔开闭而控制 $CO_2$ 的出入。K、Mg、Zn 等是多种重要的相关酶的活化剂。磷酸和 B 促进光合产物的运输。

## 三、光合作用与作物产量

### （一）光合作用与作物产量形成

作物产量决定于干物质积累的多少，其中从土壤中吸收的矿质营养仅占 5%～10%，有机物占 90%～95%，这些有机物都是直接或间接地来自于光合作用。人类收获的经济产量是以生物产量为基础的。

$$作物经济产量 = 生物产量 \times 经济系数$$

其中，经济产量指人们要求收获的经济器官的干重；生物产量是植物一生中所累积的物质总干重；经济系数与品种遗传特性、栽培管理措施及物质的分配有关。

$$生物产量 = 总光合产量 - 消耗$$

$$光合产量 = 光合速率 \times 光合面积 \times 光合时间$$

所以

$$经济产量 =（光合速率 \times 光合面积 \times 光合时间 - 消耗）\times 经济系数$$

其中光合速率是最关键的因素，与品种遗传特性及各种外界条件的影响都有关系。光合面积与品种特性、叶面积以及群体结构有关。光合时间与生育期、日照时数以及叶片的寿命等有关。消耗主要指呼吸消耗，凡是影响呼吸的各因素都与之有关，其他如落花、落果、病虫害等也减少了生物产量。

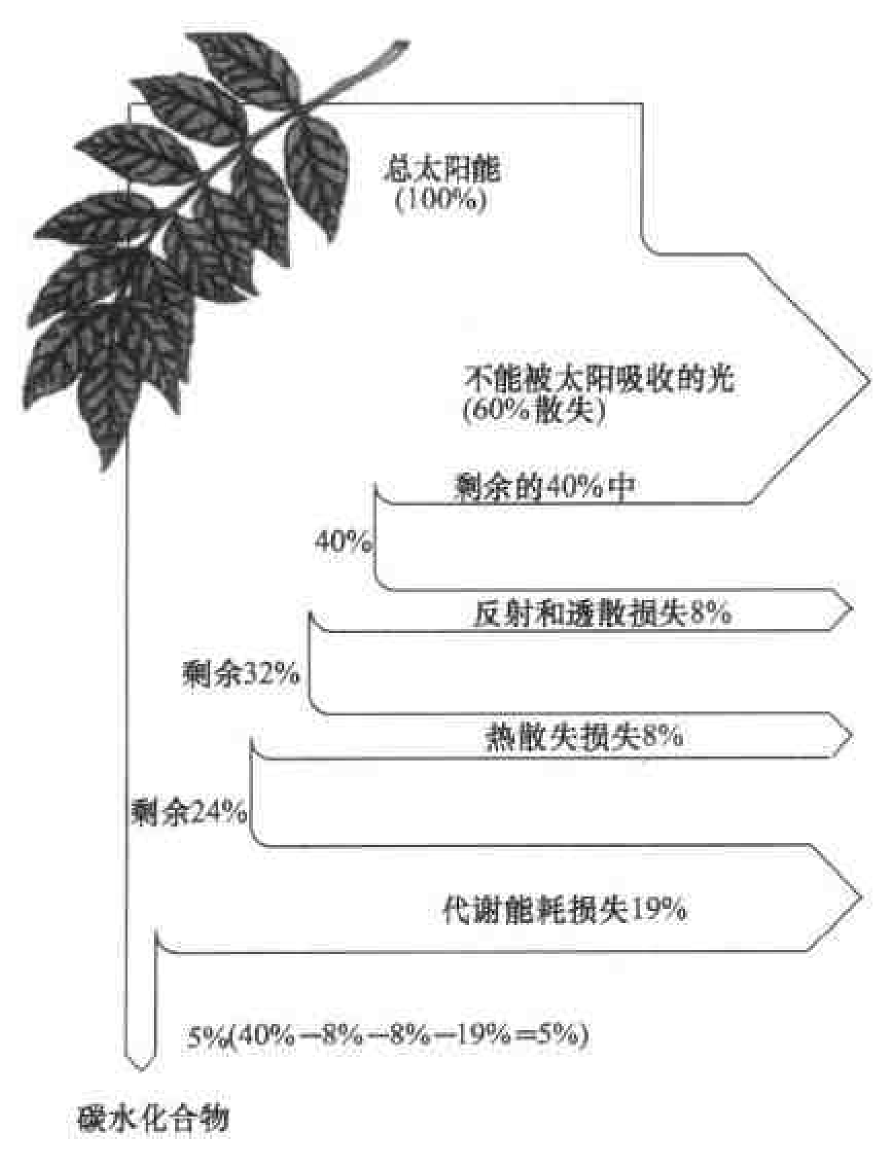



图 7-27　叶片吸收转化太阳能的能力

（Taiz & Zeiger　1998）

总辐射能中只有大约 5%被植物转化并贮存在碳水化合物中。

所以，如何提高作物产量，主要是通过促进光合作用，如控制环境条件，提高光合速率，延长光合时间；提高群体光能利用率；减少光合产物的消耗；调节光合产物的分配和利用等。在农业生产中，最关键的是提高作物群体的光能利用率。

通常将作物生育期内，通过光合作用贮存的化学能占投射到这一面积上的日光能的百分比称光能利用率(efficiency for solar energy utilization)。

$$光能利用率 = \frac{单位面积上的作物生物产量折合热能}{单位土地面积在生育期所接受的日光能} \times 100\%$$

太阳的总辐射能很高，但不能被植物所完全吸收与利用，到达叶片表面的可见光中，一部分被反射或透过叶片损失，一部分为热散失，部分用于其他代谢，最多仅约 5% 的光能被光合作用转化贮存在碳水化合物中(图 7-27)。加之播种期与作物苗期的漏光也可达 1/3 以上；还有其他因素如 $CO_2$ 供应不足、土壤水分匮缺、温度过高或低、缺肥、病虫害等的影响。实际的光能利用率很低，北京地区亩产达千斤的小麦，光能利用率仅为 0.5%～1%。从理论上计

算，理想条件下可达10%，所以是有相当大的提高光能利用率的潜力的，虽然不可能达到理想水平，但通过一些栽培措施，确实能在一定范围内提高作物群体的光能利用率，以提高作物产量。

## （二）提高群体光能利用率的途径

**1. 增加光合面积**

光合面积最主要是叶面积。通过合理密植或改变作物的株型等可有效地增加光合面积。合理密植增加了叶片的总面积，也就增加了单位土地面积上的总光合面积。这项措施的关键在于合理的种植密度，既使群体得到适当发展，又使个体得到充分发育，以达到既充分利用光能与地力，又充分发挥作物的各优良特性的目的。

在生产上常用叶面积系数（leaf area index，LAI）作为一个衡量密植是否合理、作物群体发育是否正常的指标。

LAI＝绿叶总面积/土地面积

当LAI在2.5以下时，随其增加，光合产量增加，一般为5～7较好，过高时，则太密而群体郁闭，下部叶片不能正常进行光合作用，通风不良，呼吸消耗增加，也易引起病害与倒伏，反而使产量下降。同时要掌握合理的叶面积系数的动态变化。前期叶面积应扩展增加较快，吸收更多的日光能，减少漏光；中期保持LAI相对稳定，但也要避免叶片过多；后期LAI的下降要慢，以延长光合时间，这与经济产量关系极大。不同株型植物的LAI及密植程度不同，目前多培育矮杆、叶片厚而直立的品种，可增加密植程度。

**2. 延长光合时间**

可通过提高复种指数（multiple crop index）、延长生育期或补充光照等措施来适当延长光合时间。复种指数指全年作物的收获面积对耕地面积之比。

我国传统的间、套作以及目前应用的温室栽培或育苗移栽都可有效地提高复种指数，减少从播种到苗期的漏光损失。对高杆与矮杆、喜阳与喜阴、紧株型与松散株型的作物搭配进行间种、套作最能充分利用光能和地力。如豆/麦、麦/棉、粮食作物与蔬菜的间种、套作等。

**3. 提高光合效率**

从遗传育种方面培育高光效作物品种；控制光照、$CO_2$、温度、水分、矿质营养等环境条件，促进光合作用；促进同化物向经济器官运输与分配，提高经济系数等增加作物经济产量。

# 小　　结

光合碳同化是光合作用过程中，利用光反应中光能转化形成的同化力将无机物转化为有机物的步骤，是经过一系列复杂的酶促反应完成的。在适应各种生态环境中，不同植物发展了不同的碳同化途径，包括$C_3$途径、$C_4$途径与CAM途径。$C_3$途径是碳同化的基本共同途径，在卡尔文循环中，$CO_2$经羧化和还原阶段，生成磷酸丙糖，经叶绿体内膜上的磷酸转运器与无机磷酸交换，运到细胞质中进一步合成蔗糖，当运出受阻时，可暂时在叶绿体中合成淀粉。

在卡尔文循环中，催化羧化反应的酶是Rubisco，它具有羧化与加氧双重催化活性。$CO_2$/$O_2$比值影响其催化方向，当$CO_2$充分时，催化羧化反应而固定$CO_2$；当$O_2$分压增高时，催化加氧反应，而发生光呼吸代谢。光呼吸是伴随光合作用发生的吸收$O_2$并释放$CO_2$的过程。在叶绿体、过氧化体和线粒体中完成。

$C_4$途径在两种细胞中完成，在叶肉细胞的胞质中，由PEPC催化羧化反应，形成$C_4$二羧酸，进入维管束鞘细胞脱羧，释放的$CO_2$进入卡尔文循环被再固定。由于这种$CO_2$浓缩的机制，而抑制了Rubi

sco 催化的加氧反应，因此 $C_4$ 植物的光呼吸低，光合速率相对高。

CAM 途径是对高温、干旱气候的特殊适应。CAM 植物的气孔晚上开放，在叶肉细胞中由 PEPC 催化固定 $CO_2$，形成苹果酸，贮存在大液泡中，白天为减少水分丢失，气孔关闭，苹果酸脱羧产生的 $CO_2$ 由 Rubisco 催化羧化反应，实现 $CO_2$ 的再固定。

在光合碳代谢中催化许多重要生化反应的酶是受光调节的，如 Rubisco、PEPC、磷酸甘油醛脱氢酶、果糖-1,6-二磷酸酯酶，果天庚酮糖酯酶、Ru5P 激酶等都是光调节酶，加之光反应中产生的同化力用于 $CO_2$ 的固定与还原，说明 $CO_2$ 的同化也是依赖光的。

光合作用受光照、$CO_2$、温度、水分和矿质营养等多种环境因素的影响，在植物生长的环境中，这些因子同时起作用，是相互联系、相互制约的。光合作用是作物产量形成的基础，提高作物群体的光能利用率是提高作物产量的重要途径。

**思考题**

(1) 名词解释：Calvin 循环，Rubisco，磷酸转运器，光呼吸，$C_4$ 途径，CAM 途径，光合速率，光饱和点，光补偿点，光抑制，$CO_2$ 饱和点，$CO_2$ 补偿点，光能利用率。
(2) 卡尔文循环中的主要酶促反应及其生理意义是什么？
(3) 说明 Rubisco 的特点及其对光合作用的重要性。
(4) 叶绿体类囊体膜内 pH 值和 $Mg^{2+}$ 浓度在光暗条件下如何变化？对光合碳循环的意义？
(5) 比较光合作用碳代谢的 $C_3$ 途径和 $C_4$ 途径。
(6) 说明光对光合酶的调节及其意义。
(7) 光呼吸有什么特点？说明 $C_2$ 循环和 $C_3$ 循环的关系。
(8) 从植物结构与功能的统一来比较 $C_3$、$C_4$、CAM 植物的光合作用特性。
(9) 在植物细胞中，蔗糖和淀粉是怎样合成的？
(10) 绘出一般植物光合作用光强曲线图并加以说明。
(11) 从光合作用机理上来讨论影响光合作用的各种环境因子。
(12) 按功能列出与光合作用有关的矿质元素。
(13) 在生产实践中如何应用光补偿点、光饱和点、$CO_2$ 补偿点、$CO_2$ 饱和点的知识？
(14) 冬季在温室中栽培蔬菜，采取哪些农业措施来提高植物的光合速率？
(15) 作物光能利用率不高的原因有哪些？怎样提高作物群体光能利率？

# 第八章　植物的呼吸代谢及能量转换

## 第一节　呼吸作用的概念

### 一、呼吸作用的概念

呼吸作用是所有生物的基本生理功能。呼吸是生物氧化的过程，是生物体将光合产物通过有控制的步骤逐步氧化为 $H_2O$ 和 $CO_2$ 的过程。呼吸作用又称为呼吸代谢。植物的呼吸代谢是指植物以碳水化合物为底物，经过呼吸代谢途径降解，产生能量和各种中间产物，供给其他生命活动过程之需要。

呼吸作用的首要作用是提供生物体各种生命活动所需的能量。在光合作用中，植物把光能转化为化学能并存储在还原态的碳水化合物中。可以认为碳水化合物是所有生物的生命活动的能量来源。但是光合作用所生产的碳水化合物通常并不能直接提供生物生命活动所需的能量，而必须通过呼吸作用将其逐步氧化，释放出自由能并以 ATP 的形式供应生物体各种代谢的需要。呼吸作用最常用的方程式是葡萄糖的氧化：

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 + 6H_2O \longrightarrow 6CO_2 + 12H_2O \tag{8.1}$$

对比光合作用的方程式，这一过程可视为光合作用的逆过程。1mol 葡萄糖氧化可以产生大约 2870kJ 的能量。

呼吸作用的另一重要作用是提供合成其他有机物所需的原料。在呼吸代谢的过程中，碳水化合物的氧化是通过呼吸代谢途径逐步进行的。在逐步降解的过程中会产生一系列的中间产物，这些中间产物又可以是其他代谢途径的中间产物，因而提供了生产各种其他有机化合物所需的原料，并将各种代谢过程联系起来。因此，呼吸代谢可以看作是植物代谢的中心环节。

呼吸代谢主要包括底物的降解（底物氧化）和能量产生（末端氧化）。呼吸底物的氧化过程是经过一系列酶促反应，或者说呼吸代谢途径逐步地和有控制地进行的，有一些基本的呼吸代谢途径是大多数生物所具有的，例如糖酵解、丙酮酸氧化和三羧酸循环以及氧化磷酸化等途径。虽然植物的呼吸从根本上来说，与其他生物是类似的，但也有其特殊的地方，我们将在以后的章节中分别加以介绍。

呼吸可以分为有氧呼吸和无氧呼吸。有氧呼吸（aerobic respiration）是指呼吸底物在有氧条件下，被彻底氧化降解为 $H_2O$ 和 $CO_2$ 并产生大量能量（ATP）的过程；而无氧呼吸（anaerobic respiration）则是在无氧或缺氧的条件下，呼吸底物被部分氧化分解（不被彻底氧化为 $H_2O$ 和 $CO_2$）并只有较少能量产生的过程，高等植物进行无氧呼吸时产生乳酸或乙醇。

### 二、呼吸作用的生理指标

#### （一）呼　吸　商

在呼吸过程中被氧化分解的有机物称为呼吸底物。呼吸底物在呼吸过程中所释放的 $CO_2$ 的量和吸收的 $O_2$ 的量间的比值称为呼吸商（respiratory quotient，RQ）：

$$呼吸商(RQ) = \frac{释放的\ CO_2\ 的量}{吸收的\ O_2\ 的量} \tag{8.2}$$

呼吸底物不同，所释放的 $CO_2$ 的量和吸收的 $O_2$ 的量也有所差别，因此呼吸商也不一样。当以糖为呼吸底物时，其呼吸商为 1；油脂或蛋白质中含氧量较少，需要较多的氧才能被彻底氧化，因此呼吸

商小于1；而当呼吸底物为含氧量较多的多元有机酸时，则呼吸商大于1。因此可以根据呼吸商来了解某呼吸过程的底物性质。

### （二）呼吸强度

呼吸强度又称呼吸速率（respiratory rate），是指单位质量的呼吸材料在单位时间内进行呼吸所消耗的 $O_2$ 或释放的 $CO_2$ 的量。

呼吸强度的表示单位有多种方法。例如植物材料可以用干重或鲜重表示，也可以用细胞（毫克氮）来表示。在用质量为单位表示时，应注意由于其中包括了很多非呼吸材料，例如细胞壁，液泡等，因此测得的数值会偏低。真正的进行呼吸的是细胞原生质，因此用单位氮计算较为准确，但测量方法较麻烦。无论用什么表示单位，在进行比较时，都应根据需要采用同样的测量方法和表示单位。

呼吸强度的高低受许多因素的影响。植物的种类、不同组织器官、植物的发育和年龄以及各种外界条件都会对呼吸强度构成重要影响，因此，所谓呼吸强度的高低只是相对而言。

# 第二节　植物呼吸代谢途径

不同植物或不同组织和器官中的呼吸底物可能有所不同，例如当种子萌发时，淀粉类的种子以糖类为主要呼吸底物，而油料种子则以油脂为主要呼吸底物。但是在大多数植物中，光合作用所生产的糖是呼吸代谢的主要底物。糖在植物体内的呼吸代谢通常经过共同的呼吸代谢途径，如糖酵解途径、三羧酸循环途径、磷酸戊糖途径和末端氧化磷酸化途径等。这些呼吸代谢途径是相互联系的，例如糖经糖酵解途径降解所产生的丙酮酸，再经丙酮酸氧化进入三羧酸循环，最后被彻底降解为 $CO_2$；呼吸底物的氧化降解大多数是通过脱氢反应进行的，氢的受体 NAD、FAD 或 NADP 接受氢和电子形成的 NADH、$FADH_2$ 或 NADPH 进入末端氧化途径，经电子传递产生 ATP，并吸收 $O_2$ 最终形成水。植物细胞中呼吸代谢的途径在空间上是被分隔开的。糖经糖酵解途径在细胞质中进行，而三羧酸循环和末端氧化途径则在细胞的线粒体中进行。呼吸代谢途径的分室化，特别是细胞的线粒体结构对于呼吸代谢途径的进行是至关重要的，如果没有这种结构上的保障，细胞的呼吸代谢将无法进行。

## 一、淀粉和蔗糖的降解

### （一）淀粉的降解

淀粉是植物中最重要的贮存性多糖，是六碳糖聚合形成的分支或不分支的大分子多聚体。在大多数植物进行光合作用时，淀粉在叶绿体中积累，成为叶中最丰富的贮存碳水化合物。在根和茎的薄壁细胞中也有淀粉的贮存。在许多植物的种子中也含有大量的淀粉。

淀粉水解为葡萄糖的过程涉及多种酶的催化，其中最主要有三种酶，即 α-淀粉酶、β-淀粉酶和淀粉磷酸解酶。只有 α-淀粉酶可以作用于完整的淀粉粒。α-淀粉酶随机地作用于直链淀粉和支链淀粉的(1→4)键使淀粉粒分解。对于直链淀粉 α-淀粉酶可以将其最终水解为含有两个葡萄糖的麦芽糖。但是 α-淀粉酶无法水解支链淀粉的(1→6)键，因此 α-淀粉酶的水解最后形成糊精（dextrin）。α-淀粉酶的活性可以被 $Ca^{2+}$ 所激活。

β-淀粉酶作用于淀粉的非还原端将淀粉水解为 β-麦芽糖。β-麦芽糖可以因变旋作用而成为 α-麦芽糖，因此形成 β-麦芽糖和 α-麦芽糖的混合体（图 8-1）。β-淀粉酶可以完全水解直链淀粉，但是同样无法水解支链淀粉的分支，最后形成糊精。

淀粉酶存在于许多植物组织中。在萌发的种子中，淀粉酶的活性特别高。在叶中，α-淀粉酶可能

比 β-淀粉酶更重要。α-淀粉酶位于叶绿体中，常结合在淀粉粒上进行淀粉的水解。α-淀粉酶在白天或者夜晚都进行淀粉的水解，但是在白天因为有光合作用所以有淀粉粒的净生成。

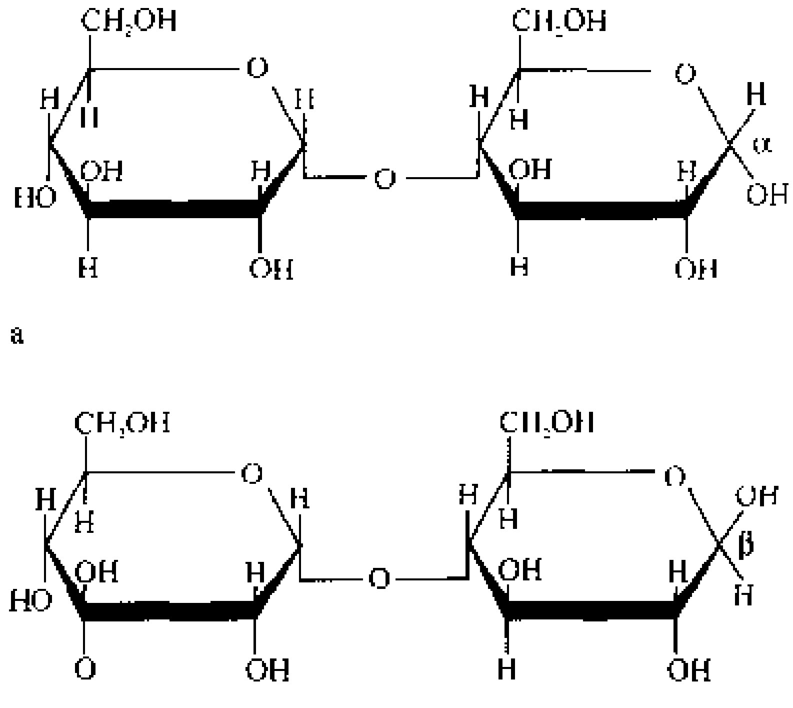


图 8-1 β-麦芽糖和 α-麦芽糖(Salisbury & Ross 1992)

淀粉磷酸解酶从淀粉的非还原端开始分解淀粉，产生葡萄糖-1-磷酸(图 8-2)。与前述的两种淀粉酶不同，淀粉磷酸解酶分解淀粉并不需要水，而是加入磷酸，因此淀粉磷酸解酶是一个磷酸化酶而非水解性的酶。葡萄糖-1-磷酸可以在磷酸葡萄糖变位酶的催化下，使磷酸基从 $C_1$ 位转移到 $C_6$ 位，生成葡萄糖-6-磷酸，然后进入糖酵解途径。由于淀粉磷酸解酶催化的淀粉分解生成葡萄糖-1-磷酸并不需要消耗 ATP，因此节约了糖酵解起始过程中将葡萄糖磷酸化所消耗的 ATP。淀粉磷酸解酶可以通过重复的磷酸化过程将直链淀粉完全分解。但是淀粉磷酸解酶也不能分解支链淀粉，它从各分支的非还原端开始通过磷酸化分解淀粉，而在分支处停止，因此最终也形成糊精。

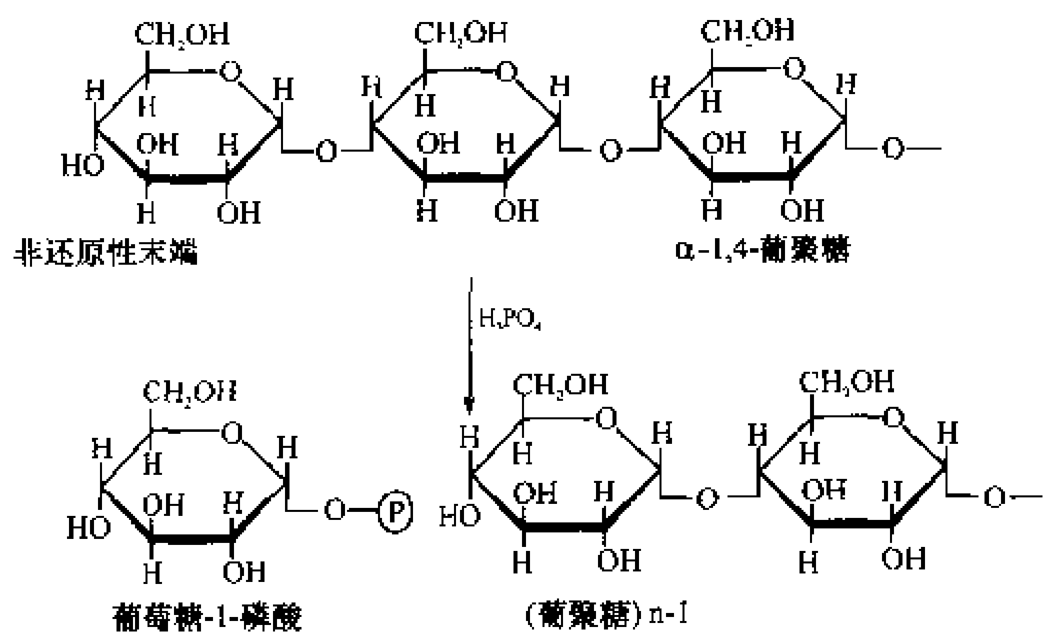


图 8-2 淀粉经淀粉磷酸酶的分解(孟繁静等 1995)

很难确定在植物体内某一淀粉分解过程是由哪一种酶所催化的。目前一般认为，最初作用于淀粉粒的是 α-淀粉酶；对于谷类的种子中，两种淀粉酶似乎都有水解功能而淀粉磷酸解酶却没有分解淀粉的功能；对于其他种类植物的种子以及叶和其他组织，淀粉磷酸解酶也有重要的分解淀粉的作用。

支链淀粉的分支是由各种脱支酶(debranching enzyme)进行水解的。在植物中主要有三类：支链淀粉酶(pullulanase)、异淀粉酶(isoamylase)和限制性糊精酶(limit dextrinase)。它们似乎作用于不同类型的多糖。经这些酶作用脱去分支的淀粉可以进一步被淀粉酶或淀粉磷酸解酶分解。淀粉水解产生的麦芽糖经麦芽糖酶催化水解产生 2 分子的葡萄糖。

植物中淀粉分解为六碳糖的过程发生在叶绿体和淀粉体中，而呼吸作用是在细胞质(和线粒体)中进行的，但是事实上六碳糖却很少从叶绿体或淀粉体转移到细胞质，因此它们可能首先转化为三碳糖-磷酸(例如磷酸二羟丙酮)，然后通过磷酸转运器运出质体。在细胞质中它们重新合成六碳糖或被呼吸消耗掉。

## (二) 蔗糖的降解

在植物体中，光合作用产物的输出形式通常是蔗糖。蔗糖被分解为葡萄糖和果糖，然后进入糖酵解途径。在植物中蔗糖可以经两条途径分解。

在大多数植物组织中，细胞质中的蔗糖合成酶(sucrose synthase)被用于蔗糖的分解。蔗糖合成

酶利用 UTP 将蔗糖分解为果糖、UDP-葡萄糖和无机磷酸。蔗糖合成酶是淀粉贮存器官中主要的分解蔗糖的酶(如在发育的种子中)。而在快速生长的组织中,蔗糖合成酶的重要作用则是将输入的蔗糖转化为细胞壁多糖。

蔗糖水解的另一途径是利用蔗糖酶(invertase)将蔗糖水解为果糖和葡萄糖。蔗糖酶位于细胞质、液泡以及细胞壁中。细胞质中的蔗糖酶是碱性的,最佳 pH 大约为 7.5;而液泡和细胞壁中的蔗糖酶则是酸性的,最佳 pH 为 5 或小于 5。细胞壁中的蔗糖酶将运输过来的蔗糖水解为葡萄糖和果糖,而后被细胞吸收。

## 二、糖酵解途径

糖酵解(glycolysis)是指葡萄糖(或淀粉)经一系列无氧的氧化过程而分解为丙酮酸的代谢途径。糖酵解途径也称 EMP 途径,这是以对发现糖酵解途径做出重要贡献的三位科学家 Embden、Meyerhof 和 Parnas 的姓氏的字头来命名的。

糖酵解存在于所有的生物体中,包括原核生物和真核生物。糖酵解从葡萄糖到丙酮酸的转化过程并不需要氧,整个过程是在细胞质中进行。而糖酵解之后的呼吸途径需要分子氧,并位于线粒体中。因此从进化的角度看,糖酵解可能是在生物进化出光合作用并产生氧气之前,生物产生能量的主要方式,是最古老的呼吸途径。

糖酵解产生 ATP 和 NADH 形式的少量能量,并为进一步的三羧酸循环准备了底物。植物组织在缺氧的条件下,糖酵解可能成为主要的供能代谢途径。过去一直认为参与糖酵解的一系列反应的酶是水溶性的,分布于细胞质中,不和任何细胞器或亚细胞结构相结合。但是近年来在动物细胞中发现,参与糖酵解的酶并不是相互无关的散布在细胞质中,而是形成一个超分子的复合物,并松散的结合在线粒体的外被膜上。这种复合物形式可能有利于糖酵解过程的高效进行。

糖酵解的途径见图 8-3。

总的糖酵解可以用以下方程式表示:

$$\text{葡萄糖} + 2NDA^+ + 2ADP^{2-} + 2H_2PO_4^- \longrightarrow 2\,\text{丙酮酸} + 2NADH + 2H^+ + 2ATP^{3-} + 2H_2O \quad (8.3)$$

糖酵解使六碳糖发生非彻底的氧化,将 1 分子的六碳糖转化为 2 分子的丙酮酸。在糖酵解的过程中,没有 $CO_2$ 的释放,也没有 $O_2$ 的吸收。每 1 分子六碳糖经糖酵解可以产生 2 分子的 NADH,所产生的 NADH 进入线粒体被 $O_2$ 所氧化,产生 2 分子的 ATP;也可以在细胞质中参与许多合成的还原反应。NADH 是在将甘油醛-3-磷酸氧化成 1,3-二磷酸甘油酸这一步骤中形成的。

糖酵解过程总的来说是一个生成 ATP 的过程。但是在糖酵解的最初几个步骤是需要消耗 ATP 的。在葡萄糖转化为葡萄糖-6-磷酸的过程需要消耗 1 分子 ATP;在果糖-6-磷酸转化为果糖-1,6-二磷酸的过程中要消耗另 1 分子 ATP。果糖-6-磷酸转化为果糖-1,6-二磷酸的过程可以有两个途径。图 8-3 中所示过程为 ATP-磷酸果糖激酶(ATP-phosphofructokinase,ATP-PFK)所催化。还有另一途径是以焦磷酸(pyrophosphate,PPi)为磷酸供体,由焦磷酸磷酸果糖激酶(pyrophosphate phosphofructokinase,PPi-PFK)催化,使果糖-6-磷酸 $C_1$ 位磷酸化。ATP-PFK 途径主要存在于所谓的"维持呼吸"过程,即在非快速生长和完成分化,而环境相对稳定的细胞中的呼吸代谢;而 PPi-PFK 途径则是适应性的,依发育过程和环境变化而增加或减少。

糖酵解从果糖-1,6-二磷酸裂解为两个磷酸三碳糖,并最终氧化为丙酮酸的过程中,每个磷酸三碳糖的氧化可产生 2 分子的 ATP,因此共产生 4 分子的 ATP(因为有两个磷酸三碳糖)。除去前述的糖酵解起初几个步骤中消耗的 2 分子 ATP,六碳糖经糖酵解途径净产生 2 分子 ATP。如果糖酵解经 PPi-PFK 途径,则净产生 3 分子 ATP,因为 PPi-PFK 途径不消耗 ATP。

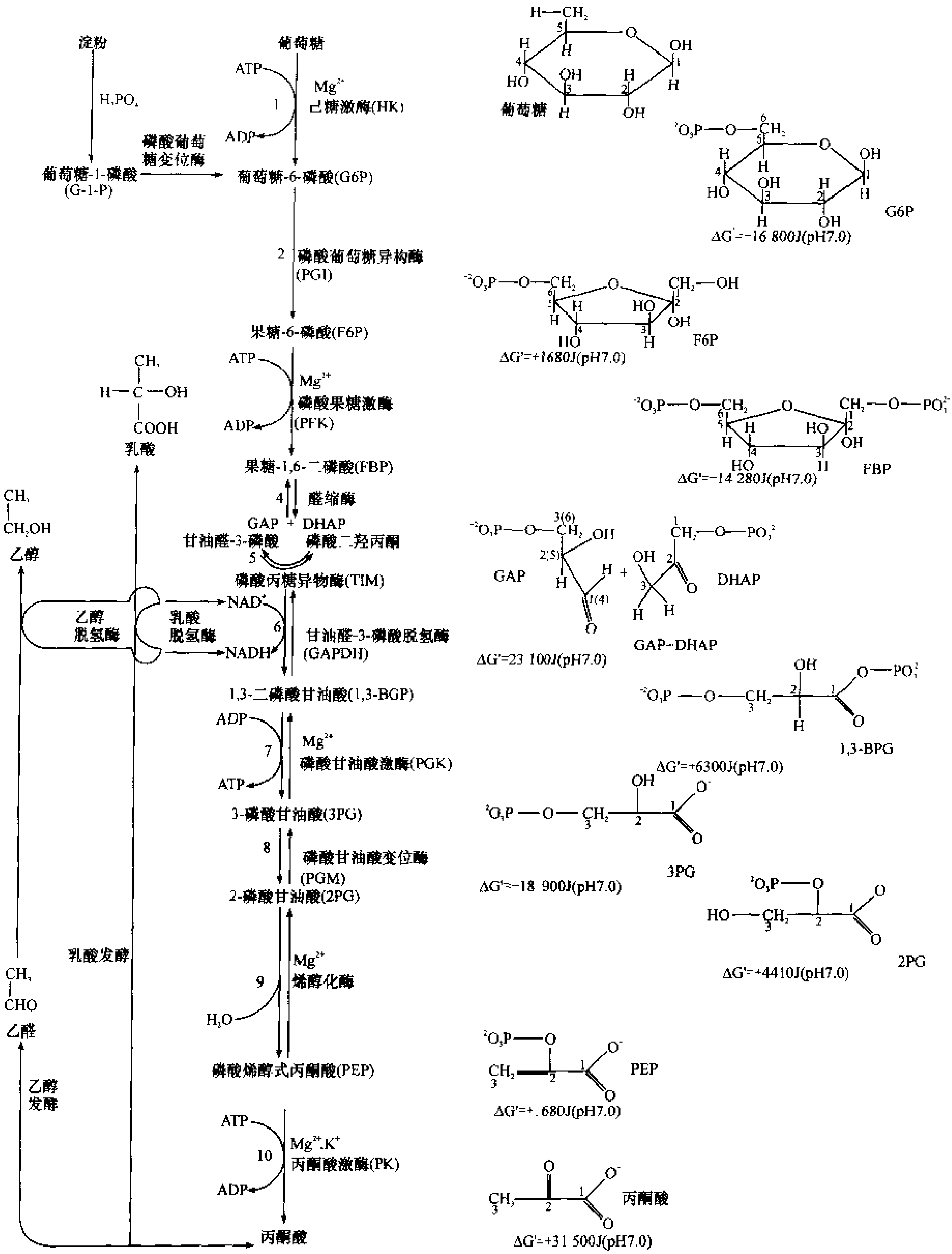



图 8-3　糖酵解途径(孟繁静等　1995)

糖酵解产生的丙酮酸在有氧和无氧条件下可以进入不同的代谢途径。

在缺氧的条件下，糖酵解形成的 NADH 和丙酮酸会积累，这时植物可以进行发酵(fermentation)，也就是无氧呼吸。发酵过程最终形成乙醇或者乳酸(图 8-3)。

## 三、三羧酸循环

糖酵解所产生的丙酮酸在有氧条件下将进一步氧化降解，最终生成二氧化碳和水。在细胞中这些代谢途径是在特殊的细胞器——线粒体中进行的。

### (一) 植物线粒体

植物线粒体和其他非植物生物的线粒体是基本相似的。在光镜下细胞中线粒体有多种形态，但以圆柱体和椭球体为主。线粒体是较大的细胞器，一般直径为 0.5～1.0μm，长 1.5～3μm，线粒体的大小也因细胞种类和生理状况的不同而不一样。细胞中线粒体的数目也是随细胞种类和生理状况变化的，在代谢较活跃的组织中，细胞的线粒体数目也较多，一般来说，一个植物细胞含有大约数百个线粒体。

在电镜下，线粒体是由两层单位膜套叠而成的封闭的囊状结构(图 8-4)。

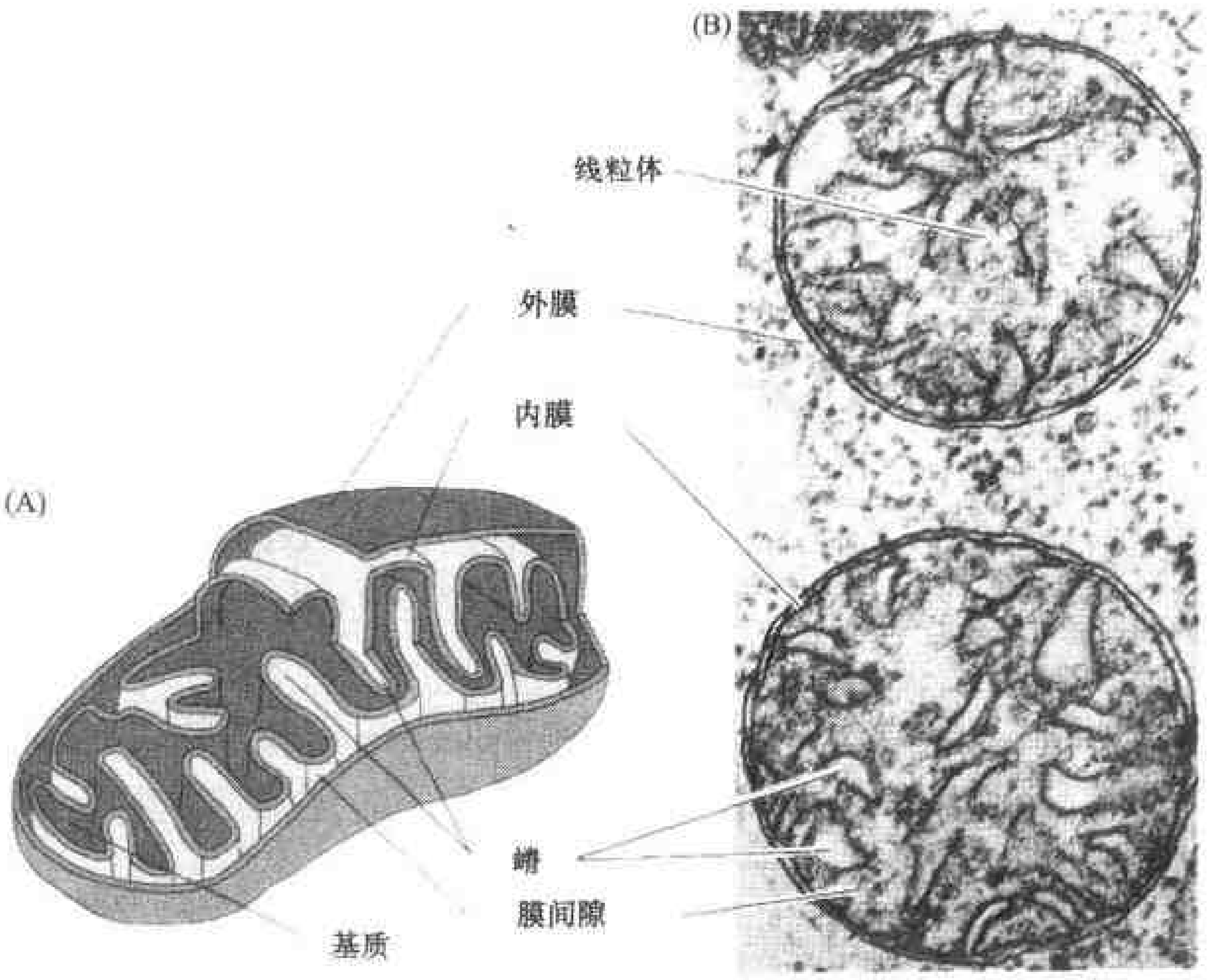



图 8-4　线粒体的结构(Taiz & Zeiger　1998)
(A)线粒体结构模式示意图；(B)线粒体结构电镜图。

包围在线粒体最外面的一层单位膜称为外膜(outer membrane)。外膜上有孔蛋白形成的孔径为 2～3nm 的小孔，分子质量小于 10kDa 的物质可以自由通过小孔。因此对于大多数代谢底物来说线粒体的外膜是通透的。在外膜内侧的另一层膜称为内膜(inner membrane)，内膜对物质的通透性很低，只有不带电荷的小分子物质才能通过。一些较大的分子需由特异的运输载体才能通过内膜。内、外膜之间的间隙称为膜间隙(intermembrane space)，间隙宽约 25nm。包围在内膜以内的液相称为线粒体基质(matrix)。基质呈胶状物，具有一定的 pH 值和渗透压，线粒体中进行的三羧酸循环、脂肪酸氧化等多种代谢途径的酶都存在于基质中，基质中还有线粒体 DNA、RNA、核糖体以及贮存颗粒。线粒

体的内膜向内折叠所形成的结构称为线粒体的嵴(cristae)。嵴使内膜的表面积大大扩增，在内膜和嵴的基质一侧的面上有许多规则排列的带柄的球状小体，称为基本颗粒(elementary particle)。事实上就是线粒体中的 ATP 合成酶，它利用电子传递过程中形成的质子跨膜电化学势梯度合成 ATP。

线粒体是半自主性的细胞器(semiautonomous organelle)。植物线粒体具有自身的 DNA，编码 3 种 rRNA 和 16 种或更多 tRNA，以及一些线粒体蛋白质。确切的植物线粒体 DNA 编码的 tRNA 数目因植物种类而异，但是没有一种植物线粒体编码全部 tRNA，因此有一些 tRNA 由核编码并从细胞质输入。植物线粒体 DNA 编码 20～30 个线粒体蛋白质。植物线粒体 DNA 的大部分是由非编码序列组成，包括许多内含子和非功能序列。虽然线粒体编码了一部分自身的蛋白质，但是绝大部分线粒体中的蛋白质是由细胞核编码的。核编码的蛋白质在细胞质中合成，需要通过特殊的方式输入线粒体。

植物线粒体基因具有一些不同于其他生物线粒体的特性。首先，植物线粒体的基因组比较大，通常有上百个千碱基对(kb)，而动物线粒体仅为 16 kb，不同植物间线粒体基因组的大小变化很大。再者，植物线粒体基因严格地按照通用的遗传密码编码，而不像其他生物的线粒体往往有少数的变异。第三，植物线粒体 DNA 和其 mRNA 间常缺少互补性，因此植物线粒体必定存在很高频率的剪接和修饰等 RNA 编辑(RNA editing)过程。此外，植物线粒体基因组的重排常与植物的细胞质雄性不育(cytoplasmic male sterility, CMS)有关。线粒体基因组的重排产生新的可读框，并且和细胞质雄性不育密切相关。和 CMS 相关的退化常局限于花药组织并且与 CMS 相关的线粒体 DNA 变化也仅发生在花粉发育的特定阶段。

## (二) 三羧酸循环

三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA 循环)也称 Krebs 循环，这是以提出这一循环的英国生物化学家 Hans A. Krebs 的姓氏来命名的。Krebs 把这一循环称柠檬酸循环(citric acid cycle)，因为柠檬酸是这个循环中的重要中间产物。三羧酸循环可以看作是有氧呼吸的第二个阶段，它是在线粒体中进行的。

**1. 丙酮酸的氧化**

丙酮酸是在细胞质中进行的糖酵解途径中产生的，它必须跨过线粒体膜进入线粒体基质才能经三羧酸循环被彻底氧化降解。丙酮酸是通过丙酮酸转运器(pyruvate translocator)输入线粒体基质

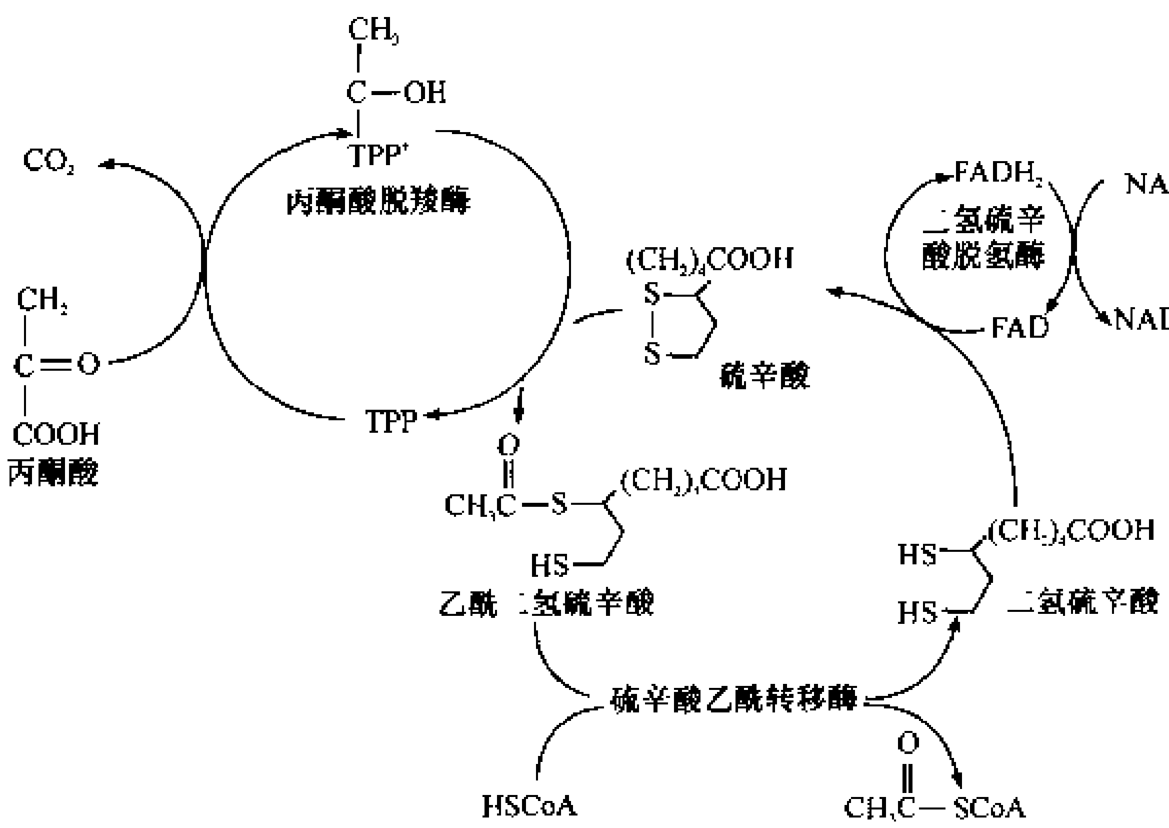



图 8-5 丙酮酸脱氧酶系(孟繁静等 1995)

的。丙酮酸转运器位于线粒体内膜，促进丙酮酸和线粒体基质中 $OH^-$ 进行电中性交换，使丙酮酸进入线粒体基质。

丙酮酸进入线粒体基质后，经丙酮酸脱氢酶系催化，氧化脱羧产生 NADH、$CO_2$ 和乙酸；乙酸通过硫酯键与辅酶 A(CoA)结合，形成乙酰辅酶 A。

丙酮酸脱氢酶系是一个由许多酶蛋白组成的复合物，其中有五种酶。这五种酶中的三种酶是丙酮酸脱羧酶、硫辛酸乙酰转移酶和二氢硫辛酸脱氢酶，它们催化丙酮酸的氧化脱羧。整个反应包括三个步骤：脱羧，氧化和与 CoA 的连接(图 8-5)。另外两种酶是激酶和磷酸酶，对其他三种酶起调节的作用。激酶利用 ATP 使丙酮酸脱氢酶上某些苏氨酸残基的羟基磷酸化，因而使该酶失活。磷酸酶则使被磷酸化的部位脱磷酸化，因而恢复酶的活性。此外，丙酮酸脱氢酶系还包括焦磷酸硫胺素(TPP)、辅酶 A(CoA～SH)、FAD、$NAD^+$、硫辛酸和 $Mg^{2+}$ 等辅助因子。

**2. 三羧酸循环**

乙酰辅酶 A 可以看作是三羧酸循环的起始底物。乙酰辅酶 A 不仅是糖代谢的中间产物，也是油脂和某些氨基酸的代谢产物，因此，三羧酸循环是糖、油脂和蛋白质三大类有机物质氧化代谢的共同

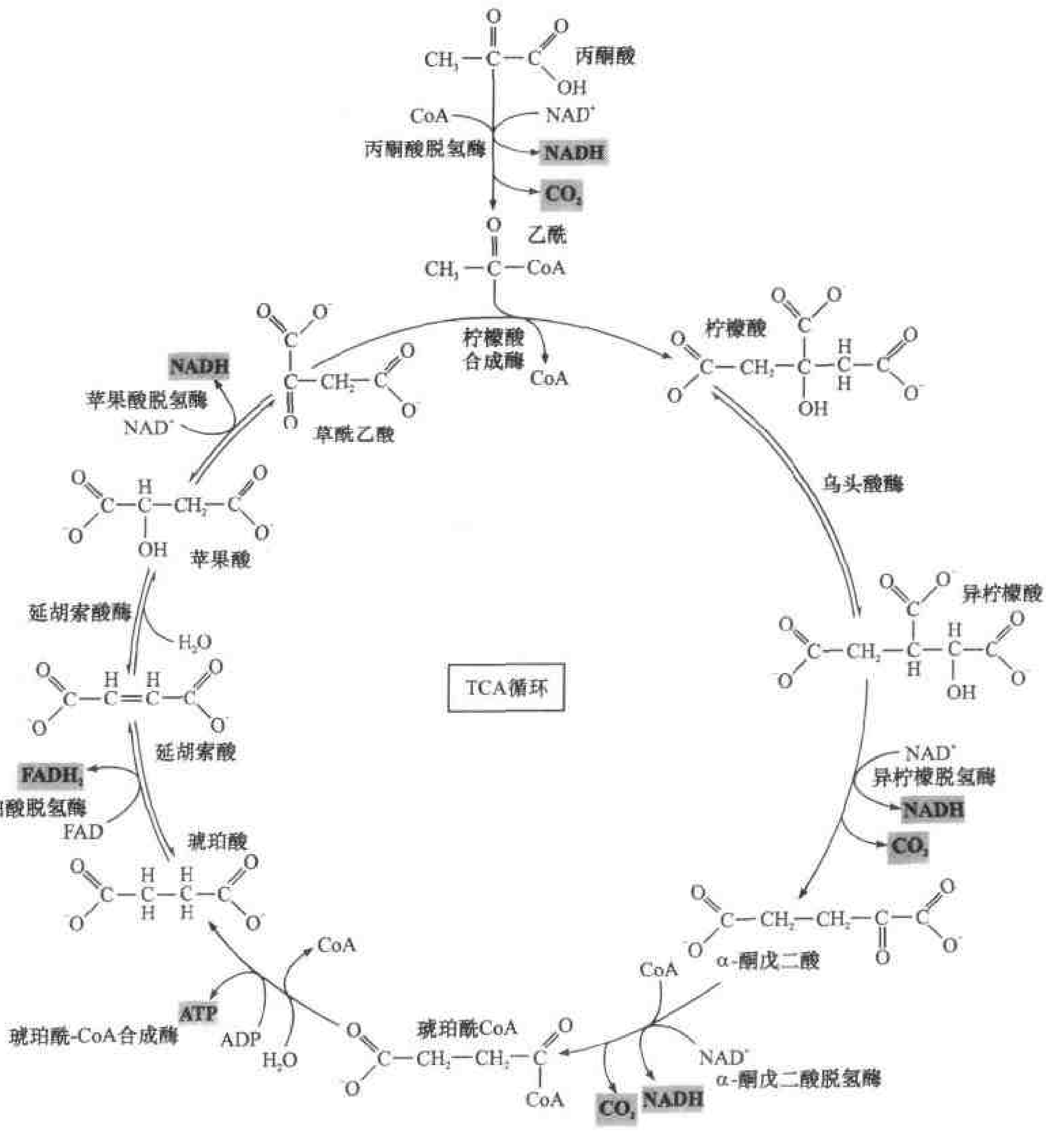



图 8-6 三羧酸循环反应过程(Taiz & Zeiger 1998)

途径。

三羧酸循环的反应过程如图 8-6。整个循环分 8 步进行。

①乙酰 CoA 在柠檬酸合成酶的催化下，与草酰乙酸缩合成柠檬酸。

②在乌头酸酶的催化下，柠檬酸先脱水生成顺乌头酸，再加水生成异柠檬酸。

③异柠檬酸在异柠檬酸脱氢酶的催化下，脱氢生成草酰琥珀酸。草酰琥珀酸不稳定，会自动脱羧形成 α-酮戊二酸。在此反应中释放 1 分子 $CO_2$，产生 1 分子 NADH。

④α-酮戊二酸在 α-酮戊二酸氧化脱羧酶系的催化下，生成琥珀酰辅酶 A。α-酮戊二酸氧化脱羧酶系是由 α-酮戊二酸脱羧酶、硫辛酸琥珀酰基转移酶及二氢硫辛酸脱氢酶所组成的多酶复合体。在此反应中再次释放 1 分子 $CO_2$，产生 1 分子 NADH。

⑤琥珀酰辅酶 A 在 ADP 和 Pi 参与下，经琥珀酰辅酶 A 合成酶催化，生成琥珀酸和 ATP。

⑥琥珀酸在琥珀酸脱氢酶的催化下，脱氢生成延胡索酸，所脱下的氢由另一种辅酶 FAD 接受。琥珀酸脱氢酶是参与 TCA 循环的酶中惟一结合在线粒体内膜上的酶，它是复合体 II 的组成部分。

⑦延胡索酸在延胡索酸酶的催化下，加水生成苹果酸。

⑧苹果酸在苹果酸脱氢酶的催化下，脱氢生成草酰乙酸。草酰乙酸可进入下一次循环。

在三羧酸循环中，起始加入的含二碳的乙酰辅酶 A 经两步脱羧，生成 2 分子 $CO_2$，被完全氧化。每次循环在四个步骤中产生 3 分子 NADH 和 1 分子 $FADH_2$，并通过底物水平的磷酸化产生 1 分子的 ATP。在三羧酸循环的分步氧化过程中释放的自由能主要以 NADH 和 $FADH_2$的形式贮存起来，再经氧化磷酸化过程转化为 ATP。

在植物中进行的三羧酸循环有一些不同于动物的特点。首先，由琥珀酰辅酶 A 催化的从琥珀酰辅酶 A 转化为琥珀酸的反应，在植物中是生成 ATP，而在动物中生成的是 GTP。此外，在植物中普遍存在独特的 $NAD^+$苹果酸酶，这个酶催化苹果酸的氧化脱羧反应：

$$苹果酸 + NAD^+ \longrightarrow 丙酮酸 + CO_2 + NADH$$

$NAD^+$苹果酸酶的存在使植物线粒体可以进行另一途径来代谢从糖酵解产生的磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)。在细胞质中，PEP 可以通过 PEP 羧化酶和苹果酸脱氢酶合成苹果酸。植物线粒体内膜上有二羧酸转运器(dicarboxylate transporter)，它可以促进苹果酸和线粒体基质的 Pi 进行交换，将苹果酸运入线粒体基质。在基质中，$NAD^+$ 苹果酸酶再将苹果酸脱羧氧化为丙酮酸，丙酮酸则可进入 TCA 循环被彻底氧化。$NAD^+$苹果酸酶的存在使植物可以在缺少丙酮酸的情况下，完全氧化有机酸，例如苹果酸、柠檬酸、α-酮戊二酸等。这可能也是许多植物包括 CAM 植物在液泡中贮存许多苹果酸的原因。

## 四、磷酸戊糖途径

植物除了可以通过糖酵解和三羧酸循环代谢途径将糖氧化为二氧化碳和水并获得能量外，还可以通过另一代谢途径，由于这一代谢途径中的主要中间产物是五碳糖，因此被称为磷酸戊糖途径(pentose phosphate pathway，PPP)。PPP 同糖酵解一样，也是在细胞质中进行，它们都是将葡萄糖磷酸氧化降解的过程，但是在 PPP 中电子的受体是 $NADP^+$ 而糖酵解中是 $NAD^+$。在 PPP 中的一些中间产物是和光合作用中的 Calvin 循环中的相同的。但是在 PPP 中是进行分解反应而在 Calvin 循环中是进行合成反应。

PPP 的反应过程如图 8-7 所示。

PPP 的起始反应需要葡萄糖-6-磷酸。葡萄糖-6-磷酸经葡萄糖-6-磷酸脱氢酶催化，不可逆地脱氢形成 6-磷酸葡萄糖酸内酯；6-磷酸葡萄糖酸内酯被内酯酶水解转化成 6-磷酸葡萄糖酸；6-磷酸葡萄糖酸在 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶的催化下，不可逆地氧化脱羧形成核酮糖-5-磷酸。

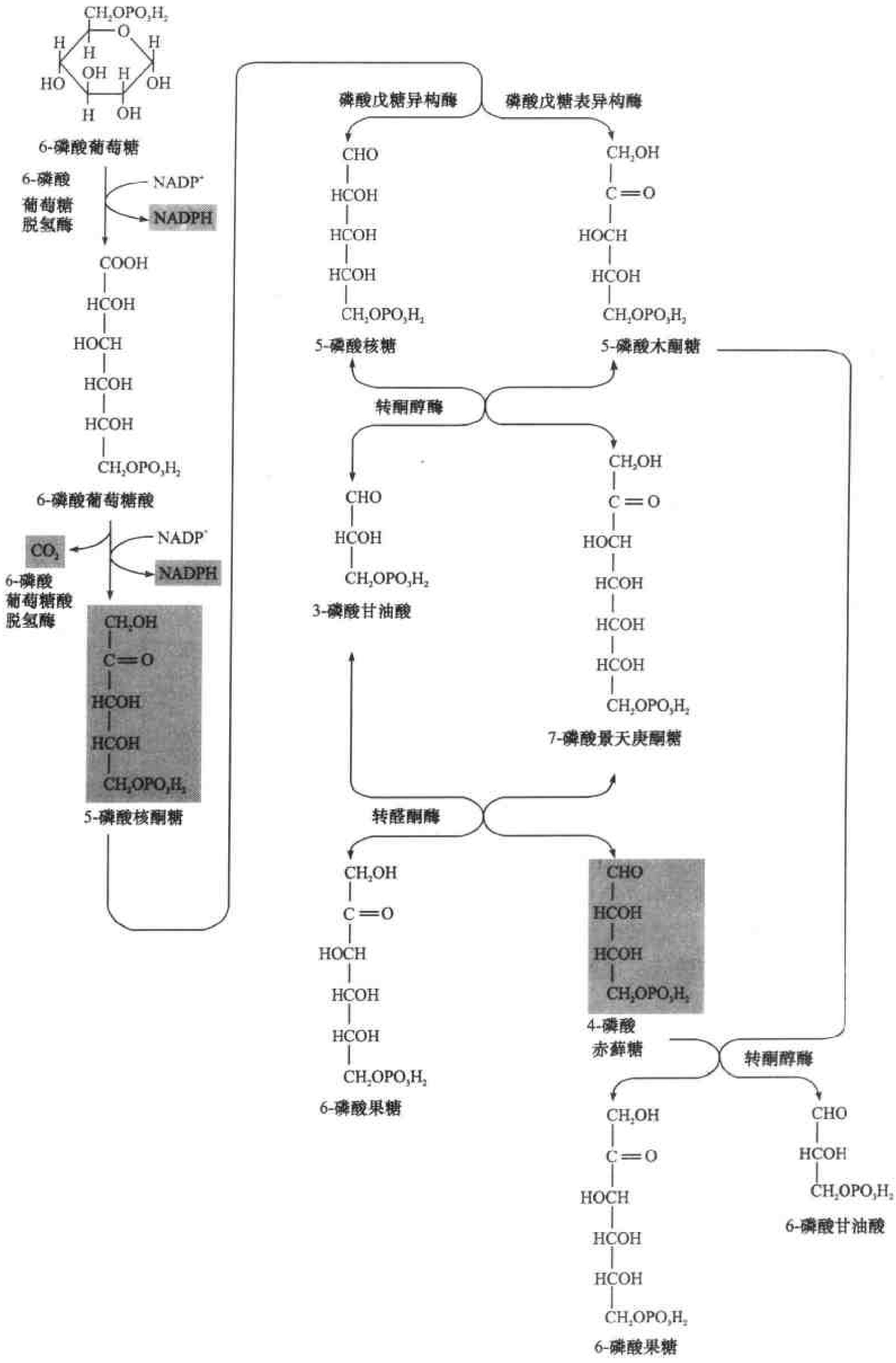



图 8-7 磷酸戊糖途径反应过程(Taiz & Zeiger 1998)

接下来的反应是在异构酶和差向异构酶的催化下，戊糖磷酸间的异构变位。之后，PPP 途径与 Calvin 循环有许多相同的反应。其中的 3-磷酸甘油醛和果糖-6-磷酸也是糖酵解途径的中间产物，因此可以通过糖酵解途径而被氧化。

PPP 有一些重要的功能。首先，PPP 可以产生 NADPH。NADPH 可以在植物线粒体中氧化产生 ATP，更重要的是 NADPH 是一些重要生物合成过程的电子供体，例如脂肪酸以及某些类异戊二烯的合成。其次，在 PPP 过程中有赤藓糖-1-磷酸生成，它是许多酚类化合物合成的起始物，例如花色素苷和木质素。再者，PPP 的中间产物核酮糖-5-磷酸是合成核酸，包括 RNA 和 DNA 的前体物质。

磷酸戊糖途径受由葡萄糖-6-磷酸脱氢酶催化的初始反应控制。当 NADPH：NADP 的比率增加时，葡萄糖-6-磷酸脱氢酶的活性被抑制。

## 五、电子传递链

在细胞中各种生理活动所使用的基本能量形式是磷酸化的形式，其中最重要的是 ATP。在三羧酸循环中，氧化过程所获得的能量是以 NADH 和 $FADH_2$ 的形式贮存，因此它们必须转化为 ATP 的形式才能用于细胞。这个转化的过程是在线粒体的内膜上，通过一系列的电子传递过程来实现的。电子的传递涉及一系列的电子载体，称为电子传递链（electron transport chain）。由于电子的最终受体是氧，因此这一电子传递过程是依赖于 $O_2$ 的。电子的传递是以分步骤的能量逐步降低的形式进行的，电子传递的过程形成跨线粒体内膜的质子梯度。

### （一）NADH 和 $FADH_2$ 电子传递链

每 1 分子的葡萄糖经糖酵解可以在细胞质中产生 2 分子的 NADH，再经 TCA 循环可以在线粒体基质中产生 8 分子的 NADH 和 2 分子的 $FADH_2$。如果这些还原态的辅酶不被氧化，整个呼吸过程就会中止。在线粒体中 $NAD^+$ 的库容很小，因此 NADH 的氧化尤为重要。当电子从 NADH 或 $FADH_2$ 通过电子传递链传递到氧，整个呼吸过程就完成了。NADH 的氧化过程可以表示为

$$NADH + H^+ + 1/2O_2 \longrightarrow NAD^+ + H_2O \tag{8.4}$$

这一氧化过程所释放的自由能大约为 220kJ/mol，而 $FADH_2$ 氧化过程产生的自由能大约为 167.5kJ/mol。NADH 或 $FADH_2$ 氧化所产生的自由能在电子传递的过程中被用于产生跨线粒体内膜的质子电化学梯度。

植物线粒体中所含有的电子载体与其他非植物线粒体中的大致相同。线粒体中的电子载体分别构成 4 个蛋白复合体，以罗马数字进行命名。它们分别为：复合体 I（NADH：泛醌氧化还原酶）、复合体 II（琥珀酸：泛醌氧化还原酶）、复合体 III（泛醌：细胞色素 c 氧化还原酶）和复合体 IV（细胞色素 c 氧化酶），这些蛋白复合体都位于线粒体内膜上。电子依次经过这 4 个复合体形成电子传递链上的电子传递。

复合体 I 是一种 NADH 脱氢酶，氧化三羧酸循环产生的 NADH 并将电子转移给泛醌（ubiquinone，UQ）。泛醌是脂溶性的苯醌衍生物，它是以 1，4-苯醌为母体，在第 6 位碳原子上带有一个不同聚合长度的异戊二烯侧链（图 8-8），不同来源的泛醌其侧链的长度不同，植物线粒体内膜上的泛醌常带有 9～10 个异戊二烯单位的侧链。泛醌存在于线粒体的内膜中，与叶绿体中的质醌类似进行电子和质子的传递。复合体 I 的电子载体包括一个单黄素核苷酸（FMN）辅酶和几个铁硫蛋白。三羧酸循环中的琥珀酸脱氢酶是复合体 II 的组成部分，催化琥珀酸氧化成延胡索酸并通过 $FADH_2$ 以及三个铁硫蛋白将电子转移给泛醌。复合体 III 起泛醌：细胞色素 c 氧化还原酶的作用，氧化还原态的泛醌，并通过一个铁硫中心、两个 b 型细胞色素（$b_{565}$ 和 $b_{560}$）和一个与膜结合的细胞色素 $c_1$ 将电子传递给细胞色素 c。在电子传递链中，细胞色素 c 是惟一的不是膜内在蛋白的蛋白质，它作为可移动的电子载体

在复合体 III 和复合体 IV 之间进行电子的传递。复合体 IV 是细胞色素 c 氧化酶，它有两个含铜中心，称为 $Cu_A$ 和 $Cu_B$，以及细胞色素 a 和细胞色素 $a_3$。复合体 IV 催化细胞色素 c 的氧化并将 4 个电子传递给 $O_2$，将其还原为 2 分子 $H_2O$。

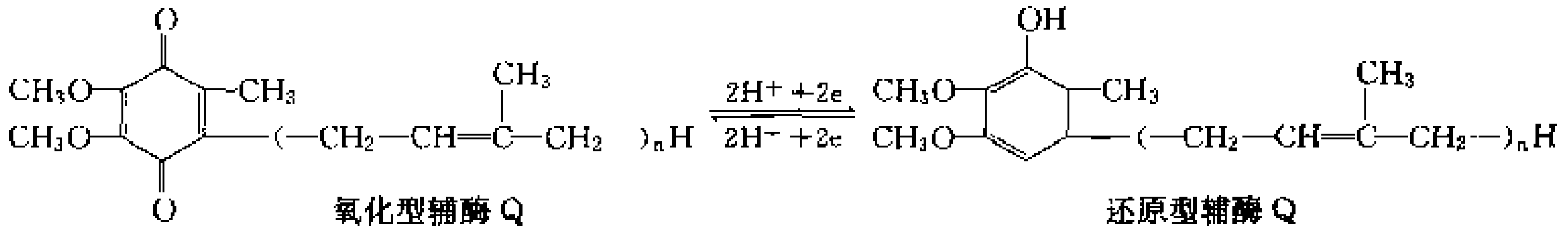



图 8-8 辅酶 Q 的氧化和还原（孟繁静等 1995）

这四个复合体在线粒体内膜上的垂直空间分布是很特殊的（图 8-9）。NADH 和琥珀酸的氧化是在膜的基质一侧，氧的还原也是在同一侧。细胞色素 c 松弛地结合于线粒体内膜的外侧，即膜间隙的一侧。在复合体 III 中，铁硫中心、细胞色素 $c_1$ 和细胞色素 $b_{565}$ 靠近线粒体内膜的外侧，而细胞色素 $b_{560}$ 则靠近基质一侧。这样的安排使电子在电子载体间进行传递时同时进行跨膜运动。这对于质子跨膜梯度的形成是非常重要的。在这四个复合体中，除复合体 II 外，其余三个复合体均有跨膜运送质子的功能（图 8-9）。

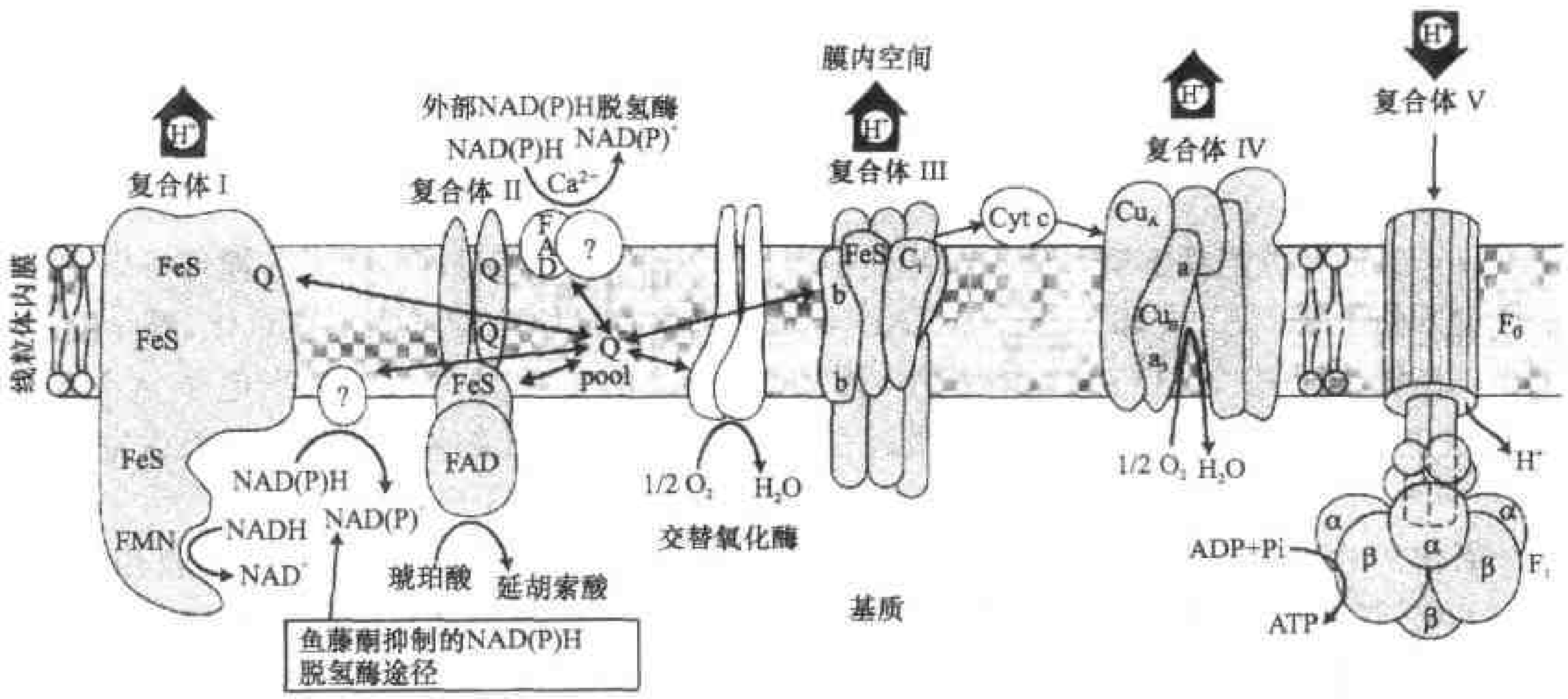



图 8-9 线粒体内膜上分布的 5 个蛋白复合体（Taiz & Zeiger 1998）

复合体 I、复合体 II、复合体 III 和复合体 IV 是电子传递链上的电子载体，复合体 V 是 ATP 合成复合体。

虽然植物线粒体内膜上的这四个电子载体的复合体与动物线粒体中的是基本相同的，但是植物线粒体中的电子传递仍有一些特殊之处。首先，在植物线粒体中有一些特殊的 NAD(P)H 脱氢酶复合体，这些酶复合体位于线粒体内膜的膜间隙一侧，催化细胞质中的 NADH 或 NADPH 氧化，是一类“外在”的 NADH 脱氢酶。这些外在的 NADH 脱氢酶将 NADH 的电子传递到泛醌，进入电子传递链。其次，植物线粒体有两条氧化线粒体基质 NADH 的途径。第一条途径是前述的通过复合体 I 的途径。这一途径对一些抑制剂敏感，例如鱼藤酮（rotenone）和粉蝶霉素（piericidin）。但是对分离植物线粒体的研究表明，植物线粒体中存在抗鱼藤酮的 NADH 氧化途径。目前还不清楚这一途径的意义，推测这种脱氢酶的主要功能可能是氧化基质中产生的 NADPH 而不是 NADH。

## （二）交替途径

除了 NADH 和 $FADH_2$ 的电子传递途径之外，大多数植物具有交替途径（alternative pathway），

进行氧的还原。这一途径对氰化物、叠氮化物和一氧化碳等抑制 NADH 和 $FADH_2$ 的电子传递途径的抑制剂不敏感。因此也称抗氰呼吸或氰不敏感呼吸、抗霉素 A 不敏感呼吸、氧肟酸敏感呼吸等。

抗氰呼吸多见于天南星科的产热植物，这些植物开花时其佛焰花序会产生大量热量，使其温度比周围高 15～35℃，促使恶臭物质散发以吸引昆虫进行传粉。根据多年来对抗氰呼吸的研究，在不同科目的 200 多种植物中都不同程度地存在抗氰呼吸途径。因此抗氰呼吸是植物中普遍存在的呼吸途径。其他如酵母、原生动物也有抗氰呼吸。

一般认为，交替途径与 NADH 和 $FADH_2$ 的电子传递途径的分支点在泛醌。由于正常的 NADH 和 $FADH_2$ 的电子传递途径从泛醌往下主要是一些细胞色素电子载体，因此也可将之称为细胞色素途径(cytochrome pathway)。而在交替途径中，电子可能从泛醌传递给一种黄素蛋白，然后通过交替氧化酶再传递到氧。

交替途径的末端氧化酶称为交替氧化酶(alternative oxidase)，交替氧化酶定位于线粒体内膜，是一种含铁的酶。交替氧化酶以二聚体的形式存在，二聚体有两种状态，即以二硫键共价联结(—S—S—)的氧化型二聚体和非共价结合(—SH HS—)的还原态二聚体。还原型二聚体的活性大约是氧化型二聚体的 4～5 倍。因此交替氧化酶二聚体间的二硫键可能有调节其酶活性的作用。交替氧化酶催化氧的还原产生 $H_2O_2$，$H_2O_2$ 在线粒体内被过氧化氢酶转变为 $H_2O$ 和 $O_2$。交替氧化酶对氧的亲和力很低。

通过交替途径的氧化并不和磷酸化偶联，因此不产生 ATP，而是产生热。除了前述的在某些特殊组织，如佛焰花序中利用交替途径产热具有独特的功能外，交替途径在植物中的普遍存在说明其可能还具有其他的功能。特别是当细胞富含糖，而糖酵解和三羧酸循环又进行得很快，它们所提供的电子无法完全经细胞色素途径传递时，交替途径的活性也最高。因此当细胞色素途径被饱和时，交替途径可能是作为一种"溢出"途径将过剩的电子除去。

植物中虽然存在多种电子传递途径，但是细胞色素途径和交替途径是主要的两条途径。植物体对这两条途径有协调控制的现象。当细胞色素途径受到抑制，例如用细胞色素途径的专一性抑制剂抗霉素 A 处理植物材料时，交替途径会随细胞色素途径的减少而逐渐加强。当细胞色素途径逐渐恢复时，交替途径又会随之减弱。植物通过什么样的机制对这两种电子传递途径进行调节目前还不清楚。

## (三) 非线粒体的末端氧化

在高等植物中，还存在一些线粒体外的末端氧化体系。线粒体外末端氧化体系的特点是催化某些特殊底物的氧化还原反应，一般不能产生可利用的能量。

**1. 多酚氧化酶**

多酚氧化酶(polyphenol oxidase)是一种含铜的氧化酶，存在于植物的质体和微体，催化酚类物质氧化为醌类物质(图 8-10)。马铃薯和苹果的伤口暴露在空气中会很快变褐，就是由于多酚氧化酶将细胞中的酚类转变为褐色的醌类所致。这实际上是一种保护性反应，因为醌类物质对微生物有毒害，可以防止感染，提高抗病力。

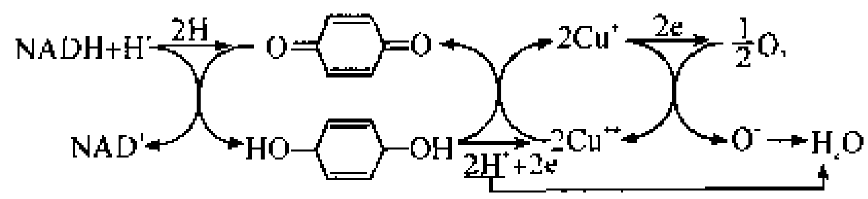


图 8-10 多酚氧化酶体系(孟繁静等 1995)

**2. 抗坏血酸氧化酶**

抗坏血酸氧化酶是含铜氧化酶，广泛存在于许多植物当中。抗坏血酸氧化酶催化抗坏血酸脱氢反应，生成脱氢抗坏血酸，反应中脱去的氢传递给氧，生成水。

抗坏血酸可以与其他氧化还原体系偶联扩大末端氧化的作用(图 8-11)。

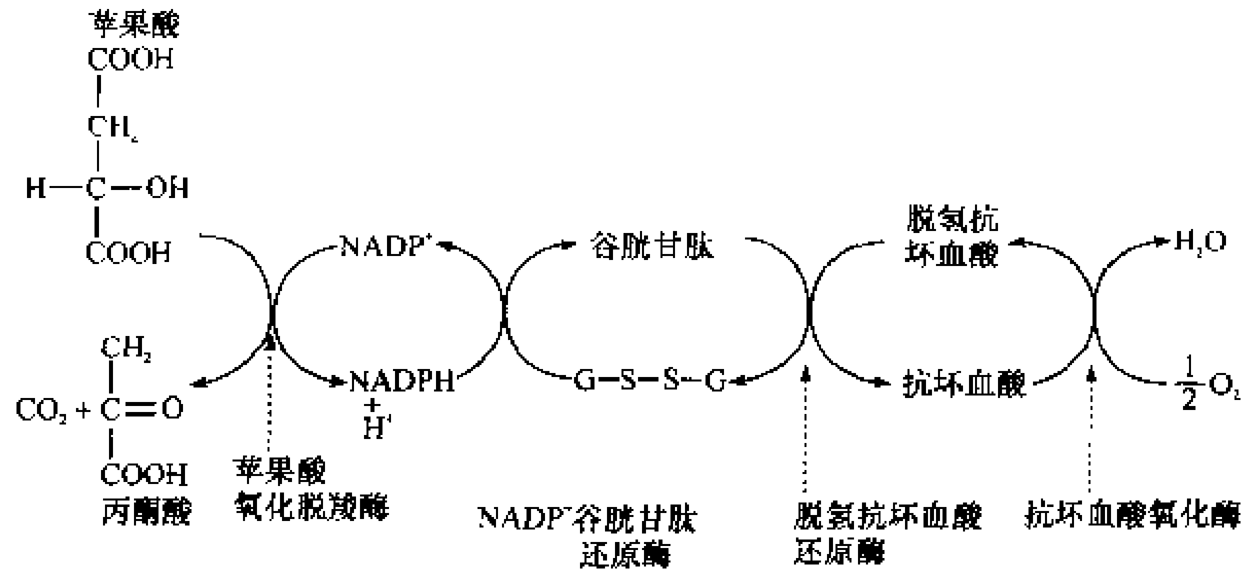



图 8-11 抗坏血酸氧化酶体系与其他氧化还原体系的偶联(孟繁静等 1995)

**3. 过氧化物酶和过氧化氢酶**

过氧化物酶(peroxidase)是含铁卟啉的蛋白,它可以催化 $H_2O_2$ 对多种芳香族胺类或酚类化合物的氧化作用。过氧化氢酶(catalase,亦称触酶)也是含铁卟啉的蛋白,它可以催化 2 分子的 $H_2O_2$ 进行反应,生成 1 分子的 $O_2$ 和 2 分子的 $H_2O$。

$H_2O_2$ 是很强的氧化剂,对细胞有严重的破坏作用。例如 $H_2O_2$ 可以使蛋白质失去活性,使膜内磷脂发生氧化破坏细胞膜的结构,破坏线粒体使能量代谢受阻等。过氧化物酶和过氧化氢酶可以促进 $H_2O_2$ 的分解,消除其毒害。

**4. 乙醇酸氧化酶体系**

乙醇酸氧化酶体系是光呼吸的末端氧化途径。有关光呼吸请参阅第七章。此外这个氧化体系在根部可能也有活性。例如水稻根部具有这个氧化体系以产生氧供根部呼吸,或排出体外氧化土壤中的还原物质。

## 六、氧化磷酸化

在线粒体中,电子经电子传递链传递到氧,伴随自由能的释放并用于 ADP 的磷酸化而合成 ATP 的过程,称为氧化磷酸化(oxidative phosphorylation)。

氧化磷酸化所产生的 ATP 的数量是和电子进入电子传递链的部位,或者说电子传递所经过的电子载体有关的。如果用 ADP∶O 比率(即每传递两个电子到氧所产生的 ATP 的数量)来表示电子传递产生 ATP 的效率,根据实验测定,从 NADH 到氧的电子传递历经复合体 I、复合体 II、复合体 III 直到复合体 IV,其 ADP∶O 约为 2.4~2.7;琥珀酸和"外在"NADH(如糖酵解途径产生的 NADH)所给出的电子从复合体 II 进入电子传递链,依次经过复合体 II、复合体 III 和复合体 IV,其 ADP∶O 约为 1.6~1.8;如果用抗坏血酸(ascorbate)作为电子供体将电子经细胞色素 c 传递到复合体 IV,则得到 ADP∶O 约为 0.8~0.9。根据这样的观察,一般认为在电子传递链上有三个储能部位,即复合体 I、复合体 III 和复合体 IV。由于实验观察中影响 ADP∶O 比率的因素比较复杂,也可以简单地认为理论上这三个部位的 ADP∶O 比率各为 3、2 和 1。

### (一) 化学渗透学说

英国生物化学家 Peter Mitchell 在 1961 年提出化学渗透学说(chemiosmotic hypothesis),为解释线粒体通过电子传递链的电子传递产生 ATP 的机制奠定了基础。化学渗透学说认为:电子载体在线

粒体内膜的几何分布使得当电子进行传递时，质子会跨膜进行转移，从线粒体基质转移到膜间隙。由于线粒体膜对质子是不通透的，因此可以建立起跨膜的质子电化学势梯度(proton electrochemical gradient)，或者也可以称为质子动势(proton motive force)：

$$\Delta P = \Delta E - Z\Delta \mathrm{pH} \tag{8.5}$$

其中 $\Delta E$ 为跨线粒体内膜的电位差，内膜外为正而内膜内为负；$Z=2.303RT/F$(在 25℃时约为 59)；$\Delta$pH 为跨膜的质子浓度差(pH 差)。

电子经电子载体传递时所释放的自由能是建立这个电化学势梯度的能量来源。但是对电子传递引起质子转移的过程目前还不完全了解。Mitchell 认为是因为电子传递中有氢载体(传递 $H^+$ 和 e)和电子载体(仅传递 e)，当电子在两者间传递时就会引起质子的吸收或释放，由于这些载体的在膜两侧的转移或分布的不对称，因此形成在膜的一侧吸收质子而在膜的另一侧释放质子。所谓的三个储能的部位，即复合体 I、复合体 III 和复合体 IV 是跨膜质子电化学势梯度形成的部位。根据这样的理论在复合体 III 中已经提出一定的模型来解释电子传递和质子跨膜转移间的偶联关系，但是目前还无法解释复合体 I 和复合体 IV 的电子传递和质子跨膜转移的偶联关系。

依据化学渗透学说，线粒体电子传递形成的 ATP 是在线粒体内膜上 ATP 酶上合成的，而不是在电子传递链的复合体上合成。跨膜的质子动势可以驱动质子经过 $F_0F_1$-ATP合成酶从膜间隙回到线粒体基质，其释放的自由能被用于 ATP 的合成。

在实验中利用解偶联剂(uncoupler)可以“解除”ATP 合成和电子传递间的偶联。这些解偶联剂常是抑制质子跨膜梯度形成的抑制剂。解偶联剂在抑制 ADP 的磷酸化，或者说 ATP 合成的同时，电子传递链上的电子传递反而会加快。说明电子传递过程中形成质子电化学势是合成 ATP 的必要条件。

除了用于 ATP 的合成过程，质子的电化学梯度在 TCA 循环、氧化磷酸化的底物和产物的跨线粒体膜运输方面也有重要的作用。例如，ATP 是在线粒体基质中合成的，因此合成的 ATP 必须运出线粒体以满足细胞质中的能量需要，而 ADP 则必须运入线粒体以满足 ATP 合成的需要。ATP 的运出和 ADP 的运入是通过内膜上的 ATP/ADP 转运器进行的。ATP/ADP 转运器促进 ATP 和 ADP 的跨膜交换。当电子传递形成跨膜的电势时，可以有更多的 $ATP^{4-}$ 运出线粒体以交换 $ADP^{3-}$。ATP 合成所需要的 Pi 则通过一种主动的磷酸转运器进行，利用跨膜的 $\Delta$pH 促进 $Pi^{2-}$ 和 $OH^-$ 的交换，使

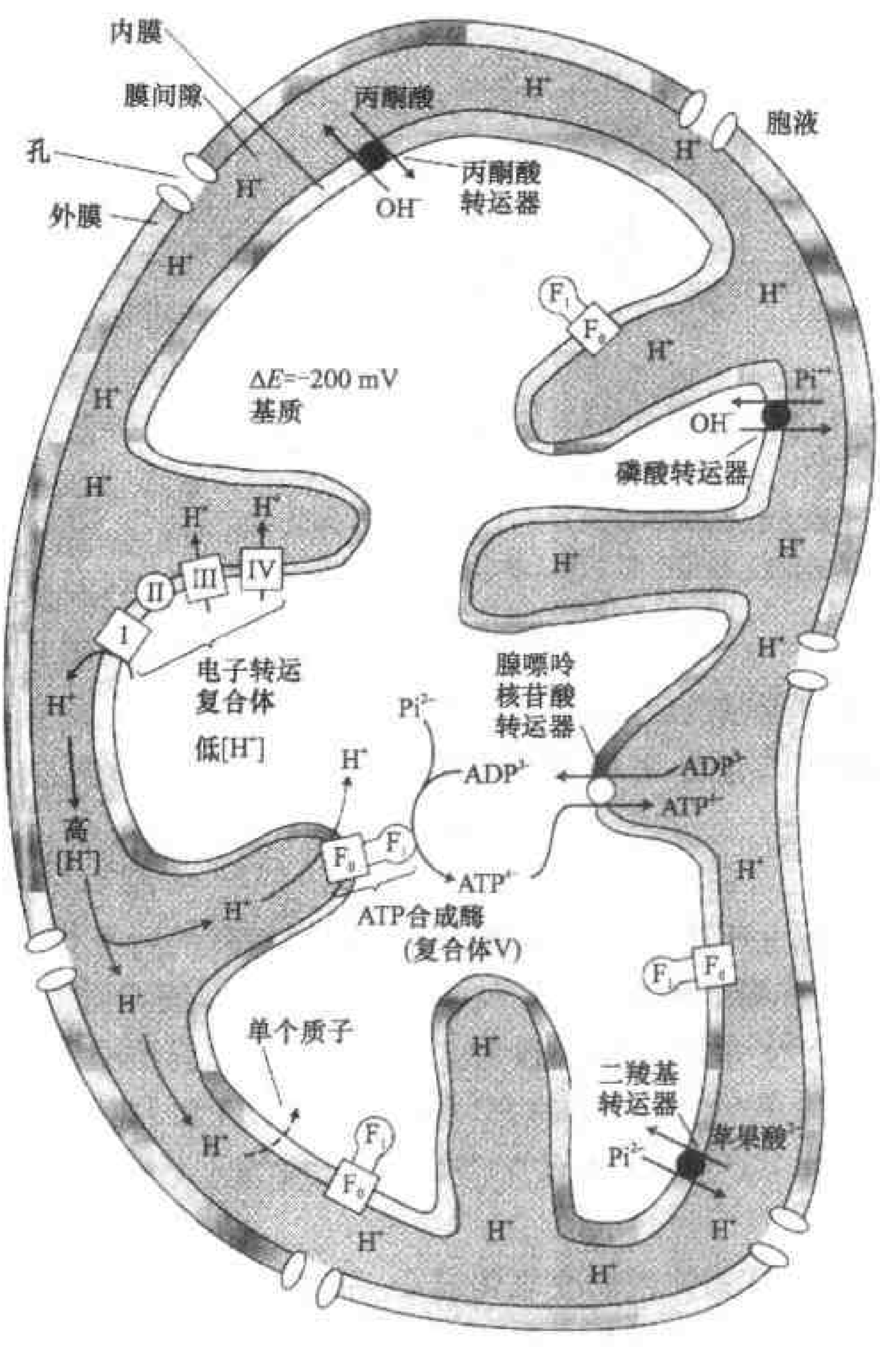



图 8-12 质子跨膜电化学势梯度与 ATP 合成、氧化磷酸化底物和产物的运输过程关系示意图(Taiz & Zeiger 1998)

电子传递所形成的质子跨膜电化学势梯度不仅用于 ATP 的合成，同时也用于氧化磷酸化底物和产物的运输过程。

$Pi^{2-}$运入线粒体，$OH^-$运出线粒体。此外，对于丙酮酸的线粒体输入也需要跨线粒体内膜的 ΔpH。因此电子传递所形成的质子跨膜电化学势梯度不仅用于 ATP 的合成，同时也用于底物和产物的运输过程(图 8-12)。

## (二) ATP 的合成

### 1. $F_0F_1$复合体

线粒体内膜上的$F_0F_1$复合体，有时也称为复合体 V，即 ATP 合成酶。$F_0F_1$复合体分为$F_0$和$F_1$两部分。$F_0$是膜内在蛋白复合体，嵌入线粒体内膜；$F_1$位于线粒体的基质一侧，松散地连结在$F_0$上。当$F_1$脱离$F_0$时，表现为 ATP 酶的活性。因此$F_0$对于$F_0F_1$复合体的 ATP 合成功能是很重要的。$F_0$是由 4 种亚基组成的"中空"的通道，质子可以通过这个通道顺质子电化学梯度高速的进行跨膜运动。$F_1$则是由 5 种亚基构成。其中 3 个 α 亚基和 3 个 β 亚基交替排列组成$F_1$"头部"中空的六角形。在 3 个 β 亚基上各有一个核苷酸的结合位点。γ 亚基位于 α 和 β 组成的"六角形"的空腔中，对催化起重要作用(图 8-13)。

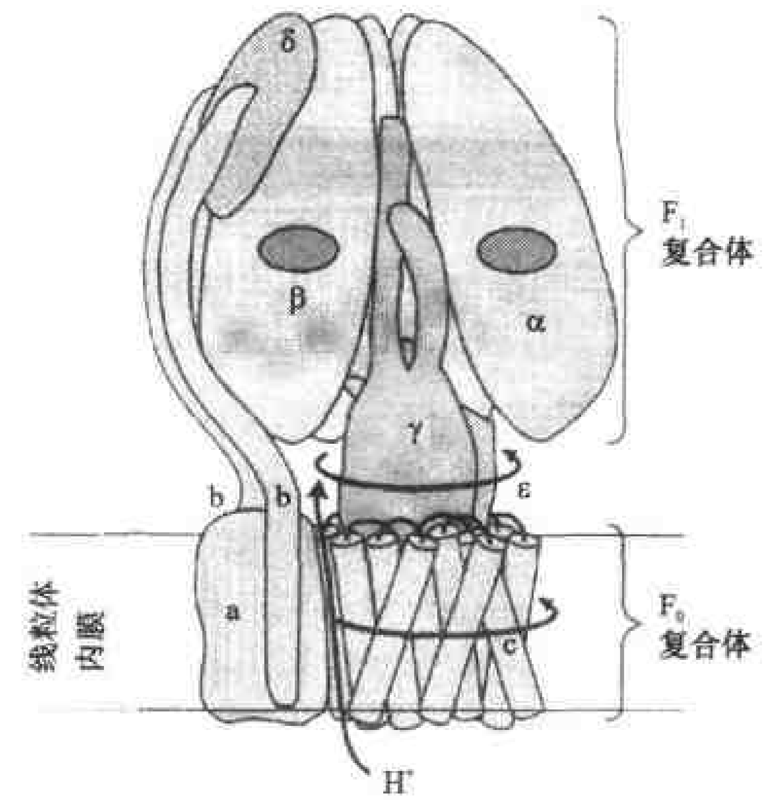



图 8-13 $F_0F_1$复合体结构示意图(Taiz & Zeiger 1998)

质子顺质子电化学梯度通过$F_0F_1$复合体时，会引起 γ 亚基的旋转，结果引起 3 个 β 亚基构象的依次转化，完成 ATP 的合成和释放。

### 2. ATP 的合成机制

为了解释$F_0F_1$-ATP 合成酶利用质子梯度合成 ATP 的机制，Paul Boyer 提出结合转化机制(binding-change mechanism)。结合转化机制认为：在 ATP 的合成过程中，主要耗能的步骤是 ATP 的释放，而非 ATP 高能键的形成；β 亚基上有核苷酸的结合位点并具有开放(open)、松弛(loose)和紧张(tight)三种构象，$F_1$的 3 个 β 亚基分别处于不同的构象，并分别对应于底物(ADP 和 Pi)的结合、产物形成和释放等过程；当质子顺质子电化学梯度通过时，会引起 γ 亚基的旋转，结果引起 3 个 β 亚基构象的依次转化，完成 ADP 和 Pi 的结合，ADP 和 Pi 的高能磷酸键的合成，并使 ATP 得以从催化复合体上释放。(请参阅第六章"ATP 的合成"部分)。

## (三) 氧化磷酸化的能量转换

综上所述，一个六碳糖分子被彻底氧化的过程中，在底物水平的磷酸化过程中产生 4 分子 ATP(两个在糖酵解途径，两个在 TCA 循环)，在细胞质中产生 2 分子 NADH(糖酵解途径)，在线粒体基质中产生 8 分子 NADH 和 2 分子 $FADH_2$(丙酮酸氧化和 TCA 循环)。如果按线粒体基质 NADH 的电子传递产生 3 分子 ATP，细胞质 NADH 和 $FADH_2$的电子传递产生 2 分子 ATP 来计算，电子传递的结果共产生 32 分子 ATP，再加上底物水平磷酸化过程中产生的 4 分子 ATP，总共产生 36 分子 ATP。

1mol 葡萄糖彻底氧化成 $O_2$ 和 $H_2O$ 所释放的自由能是 2870kJ，其中一部分能量被转化为 ATP 的形式，用于其他生命过程。ATP 水解所释放的自由能为 31.8kJ/mol，如果以 1mol 葡萄糖产生 36 mol ATP 计，则贮存在 ATP 中的自由能为 1145kJ。这样，在葡萄糖的完全氧化过程中大约有 1145/2870=40%的能量转化为有用能，而其余能量以热的形式散发掉。

# 第三节　呼吸代谢的调控

## 一、腺苷酸库和能荷

ATP是各种生物体能量贮存和利用的中心。ATP不仅被直接用于各种代谢活动，而且被转化为其他的三磷酸核苷参与各种生物合成。例如三磷酸尿苷(UTP)参与多糖的合成；三磷酸胞苷(CTP)参与脂类的合成；三磷酸鸟苷(GTP)参与蛋白质合成等等。呼吸作用是产生ATP的重要过程，在呼吸代谢途径中，有许多关键的调节酶受ATP或ADP和AMP浓度的调节。ATP、ADP和AMP构成腺苷酸库(adenylate pool)。

Atkinson提出能荷(energy charge)的概念，认为ATP有两个高能磷酸键，ADP有一个高能磷酸键，而AMP无高能磷酸键，在线粒体和叶绿体中有高活性的腺苷酸激酶，催化可逆的ATP＋AMP $\rightleftharpoons$ 2ADP反应，使这些核苷酸达到平衡。能荷表示腺苷酸库中高能磷酸键含有的程度。能荷值可以用下式表示：

$$\text{能荷(EC)} = \frac{[ATP] + 1/2[ADP]}{[ATP] + [ADP] + [AMP]}$$

当腺苷酸库中都是ATP时，能荷为1；当腺苷酸库中都是AMP时，能荷为0，而当腺苷酸库中都是ADP时，能荷为0.5。在绝大多数的代谢活跃的细胞中，能荷值在0.8到0.95之间，而厌氧条件下或受毒害的细胞中，能荷值要低得多。Atkinson认为代谢途径中的利用ATP的关键酶可以被高能荷变构激活，而产生ATP的关键酶则被高能荷变构失活。

虽然动物和一些微生物的酶是符合能荷调节的，但是对植物细胞的分析结果表明，许多植物的酶调节并不受能荷的控制。

线粒体中ADP的浓度可能是控制呼吸的重要因素。当线粒体中ADP浓度较高时，ATP的合成就会加快，电子传递的速率也随之加快，因而TCA循环的速率也会加快。而当线粒体中ATP合成增加使ADP浓度降低时，电子传递的速率会降低，NADH含量增加。ATP和NADH对糖酵解和TCA循环中的多种调节酶都具有抑制作用，因此使呼吸速率降低。

线粒体ADP浓度又受到合成的ATP的运出线粒体速率和ATP在细胞质中周转速率(即ATP被用于各种细胞过程后转变为ADP再运回线粒体)的控制。线粒体中ATP运出的速率越高，细胞质中ATP的周转越快，则线粒体中ADP的浓度就高，呼吸的速率也高；反之，呼吸的速率就低。

## 二、糖酵解的调控

在糖酵解反应中的己糖激酶、淀粉磷酸解酶和磷酸果糖激酶、丙酮酸激酶都对糖酵解途径有调节作用，其中磷酸果糖激酶和丙酮酸激酶是主要的调节酶。

己糖激酶和淀粉磷酸解酶催化葡萄糖或淀粉进入糖酵解途径的初始反应。己糖激酶的活性被其催化反应的产物葡萄糖-6-磷酸所抑制，但淀粉磷酸解酶的调节机制目前还不清楚。

磷酸果糖激酶是变构酶，其活性可以被ATP、PEP和柠檬酸抑制，而被Pi激活。在植物体中，PEP是磷酸果糖激酶的主要抑制物，而不是ATP。PEP对磷酸果糖激酶的抑制作用可以被Pi解除，因此PEP和Pi的比率是调节植物糖酵解途径中磷酸果糖激酶活性的关键因子。

丙酮酸激酶也是变构酶，在糖酵解中催化PEP生成丙酮酸并产生ATP。这个酶可以被许多TCA循环的中间产物，例如柠檬酸、α-酮戊二酸和苹果酸所抑制，形成反馈调节。高浓度的ATP对该酶也有抑制作用。此外，乙酰辅酶A和长链脂肪酸也能抑制该酶的活性。

在植物中糖酵解的主要调节部位是丙酮酸激酶的反应，次级的调节是磷酸果糖激酶的活性。而

在动物体中磷酸果糖激酶活性是主要的调节环节。

但是，有证据表明植物中存在可以"绕过"丙酮酸激酶的催化反应。在植物的细胞质中广泛存在PEP羧化酶，线粒体的$NAD^+$苹果酸酶可以催化苹果酸脱羧生成丙酮酸，因此理论上可以绕过丙酮酸激酶催化的反应。在缺少细胞质丙酮酸激酶的转基因烟草中，叶片的呼吸和光合都没有受到影响。说明丙酮酸激酶的反应是可以绕过的。

我们在糖酵解途径一节中已经介绍了果糖-6-磷酸转化为果糖-1,6-二磷酸的过程可以有ATP-PEK和PPi-PEK两种酶促过程。植物中还有果糖-2,6-二磷酸酶，果糖-2,6-磷酸酶可能是PPi-PEK的激活物，同时又抑制果糖-1,6-二磷酸酶的活性（催化使果糖-1,6-二磷酸逆转为果糖-6-磷酸）。因此果糖-2,6-二磷酸酶可以控制果糖-1,6-二磷酸的水平从而调节糖酵解途径。

另一重要的糖酵解途径调节因子是$NAD^+$/NADH比率。事实上$NAD^+$/NADH比率对糖酵解、三羧酸循环和氧化磷酸化都有调节的作用。

## 三、三羧酸循环的调控

有关丙酮酸脱氢酶系的调节我们在以前已经述及。丙酮酸脱氢酶系中有激酶和磷酸酶，激酶通过磷酸化丙酮酸脱氢酶上某些苏氨酸残基的羟基使该酶失活。磷酸酶则通过脱磷酸化恢复酶的活性。丙酮酸脱氢酶的底物——丙酮酸对该酶系的磷酸化和脱磷酸化有重要调节作用，当丙酮酸含量较高时，会抑制该酶系的磷酸激酶。而ATP和NADH则抑制该酶的活性。

在三羧酸循环中有三步酶促反应是关键的调节部位。

柠檬酸催化的草酰乙酸和乙酰辅酶A合成柠檬酸的反应是TCA循环的限速步骤。在大多数生物中，ATP是该酶的变构负效应物。当ATP含量增加时会降低酶对乙酰辅酶A的亲和力，因而使反应速率降低。

异柠檬酸脱氢酶催化异柠檬酸脱羧生成α-酮戊二酸，该酶也是变构酶。它可以被ADP激活，与底物的亲和力增加。当细胞中ADP的浓度由于ATP合成增加而减少时，异柠檬酸脱氢酶因为缺少ADP的激活而活性降低。NADH对该酶也有抑制的作用。

α-酮戊二酸氧化脱氢酶系是第三个调节位点。该酶系被其催化反应的产物琥珀酰辅酶A、NADH和过量的ATP所抑制。

# 第四节　影响植物呼吸的因素

## 一、影响植物呼吸的自身因素

大量的对植物呼吸作用的研究是通过对分离的细胞器，如线粒体和植物组织的提取液中的呼吸过程进行研究得到的结果。但是在植物中呼吸过程是一个非常复杂的过程，受到许多方面的影响。植物的种类、年龄、器官的不同以及多种环境因素都会影响呼吸的过程。

不同的植物组织或器官具有不同的呼吸速率。作为一个规律，越是代谢活跃的组织或器官其呼吸的速率也就越高。例如正在发育的芽通常有很高的呼吸强度；在营养组织中呼吸速率从生长尖端到分化区域是逐渐降低的。在成熟的营养组织中，茎常具有最低的呼吸速率，叶和根的呼吸则随植物种类和环境条件而改变。

当植物的组织成熟后，它的呼吸一般保持稳定或随年龄的增加而逐渐降低。其中的一个特例是当许多植物的果实开始成熟时，会有一个呼吸的突然增加，然后又突然下降的过程，称为呼吸跃变(climacteric)，例如苹果和香蕉。在摘下的叶或花的衰老过程中也有类似的现象。这种现象是和内源的乙烯增加有关的。有关内容请参阅第十三章。

贮藏种子的水分含量是控制种子呼吸的重要因素。种子在入库前必须风干以降低水分含量，否则种子会因呼吸而发热，特别是当种子含水量超过安全含水量时，种子中就有自由水出现，呼吸强度会急剧增加，严重时种子会霉烂变质。安全含水量依种子不同而异，淀粉种子一般为14%～15%；油料种子一般为8%～9%。

## 二、影响植物呼吸的外界因素

### （一）光

在光下，植物同时进行光合作用和呼吸作用。一般来说，植物的呼吸速率远比光合速率要低，大约要低6～20倍。而且在光下线粒体中进行的呼吸代谢甚至比光呼吸更低。尽管如此，无论在光下或暗中植物都要呼吸，因此植物通过光合作用所产生的同化物有相当多的部分会通过呼吸而消耗掉。例如对一些草本植物的分析说明，大约有30%～60%的光合产物被呼吸消耗，小树大约要呼吸掉三分之一的光合产物，当树木长大光合器官所占比例变小时，呼吸与光合的比例还会加倍。热带地区，用于夜温较高因而呼吸的强度也高，因此每天光合生成的同化物有大约70%～80%会被呼吸消耗掉。

植物叶在光下的呼吸速率是和其光合作用有关的。遮阴部分的叶的呼吸速率通常比直射光下的叶的呼吸速率要低。这可能是由于光下的叶可以提供更多的糖用于呼吸。光呼吸现象也是光下呼吸增加的原因。此外光照引起的温度升高也可能增加呼吸的速率。

### （二）温　度

可以把温度对呼吸作用的影响分为最低温度、最适温度和最高温度。所谓最适温度是指植物可以保持稳态的最高呼吸强度时的温度。一般温带植物的呼吸最适温度在25～30℃。最低温度则是植物呼吸强度随温度降低至最低时的温度。不同植物种类的最低温度有很大的差异，冬小麦在0℃以下仍有一定的呼吸强度，但大多数植物在0℃以下时已无呼吸或仅有微弱呼吸。温度对植物呼吸的作用是和植物的生理状态有关的，例如冬季松针在－10～－25℃时仍可测出呼吸，但在夏季当温度降至－4℃时松针的呼吸会很快停止。在0～35℃生理温度范围内，呼吸速率是和温度呈正相关的。呼吸速率与温度的关系可以用温度系数$Q_{10}$来表示。$Q_{10}$是指温度每增高10度，呼吸速率增加的倍数。大多数植物的$Q_{10}$为2.0～2.5。

温度对呼吸的效应被应用于果实和蔬菜的贮藏。较低的贮藏温度通常可以降低果实和蔬菜的呼吸强度，延长果实和蔬菜的贮藏时间。但是在一定低温范围，可能会引起淀粉的降解而使糖的含量增加，从而改变果实或蔬菜的品质，因此需要根据贮藏物选择适合的温度。

### （三）氧

尽管氧是呼吸过程重要的参与物，但是空气中有较丰富的氧气，在25℃空气中的饱和氧浓度大约为21%，此时与之平衡的水溶液中的氧可以达到265μmol/L，而细胞色素c氧化酶所催化的反应中氧的$K_m$值还不到1μmol/L，因此在正常情况下，空气中氧的浓度不会影响呼吸的进行。事实上，当空气中的氧降低到5%时仍然很难观察到对整体植物组织的呼吸速率有任何影响。一般植物在空气氧浓度达10%以下，甚至2%～5%时呼吸强度已经饱和。

氧在水溶液中的扩散速度要远低于其在空气中的扩散速度，氧在水中的扩散要比空气中慢$3\times10^6$倍。因此对植物体来说，氧供应的限制主要是来自氧的液相扩散速率的限制。从这个角度讲，细胞间的空气间隙对于加速氧气的扩散是很重要的。在一些植物中会形成特殊的结构，提供氧气的扩散通道，例如水稻中从叶到根有通气组织使氧可以向根部扩散。沼泽地树木的根生长在缺氧的环境

中，它们或者利用不需氧的发酵代谢或者产生某种结构以利氧气的运输，例如海榄雌属(*Avicennia*)和红树属(*Rhizophora*)生长出气根(pneumatophore)露出水面，使氧气可以从气根扩散进入根部。

虽然氧对植物的呼吸速率没有重要的影响，但是外界氧的浓度会影响糖的消耗速率。法国科学家巴斯德首先发现，在有氧的条件下酵母比在厌氧条件下消耗的糖要少一些。这种氧抑制糖分解的现象称为巴斯德效应(Pasteur effect)。在植物中也有同样的现象，在厌氧条件下发酵代谢的速率会增加。产生这一效应的主要原因是糖酵解途径的调节作用。因为在有氧条件下细胞中 PEP 和 ATP 水平较高，抑制了糖酵解途径的调节酶，因此降低了糖酵解的速率，而在厌氧条件下的植物组织中细胞的 PEP 和 ATP 水平较低，它们的抑制效应也较低，结果糖的消耗量增加。

## (四) 二氧化碳

大气中 $CO_2$的含量约为 0.033%，这样的浓度不会抑制植物组织的活性作用。当 $CO_2$的含量增加到 3%～5%时，对呼吸作用有一定的抑制。这种效应也被用于蔬菜和果实的贮藏。通常情况下，果实被贮藏于 2%～3%氧气和 3%～5%$CO_2$的低温条件下，以减少贮藏果实呼吸速率。保持一定的氧气可以减少发酵代谢的发生。高浓度的 $CO_2$会抑制乙烯对果实成熟的促进效应。

## (五) 伤　　害

物理性的伤害也会引起呼吸的增加，这种呼吸的增加不仅是由于线粒体呼吸的增加，而且也是因为非线粒体呼吸的增加，有关非线粒体呼吸在非线粒体的末端氧化一节中已经述及。在这类呼吸中通常是利用氧进行氧化反应，产生某种保护性的物质，并不涉及 $CO_2$的释放和 ATP 的生成。

## (六) 离　　子

当植物培养在无离子水中，加入离子会刺激呼吸的增加，这种现象被称为盐呼吸(salt respiration)。盐呼吸产生的原因还不清楚，可能是由于离子的吸收需要 ATP，因而呼吸的速率增加。

# 小　　结

呼吸作用是植物最基本的生理活动之一。呼吸作用是植物体将光合产物通过有控制的步骤逐步氧化为 $H_2O$ 和 $CO_2$的过程。呼吸作用不仅产生能量以供植物体各种生理活动的需要，而且为各种生物的合成提供了代谢底物。呼吸作用是通过呼吸代谢途径进行的。植物中的呼吸代谢途径主要有糖酵解途径、三羧酸循环和氧化磷酸化以及磷酸戊糖途径。糖酵解途径在细胞质中进行，代谢过程不需要氧，也没有 $CO_2$的释放。三羧酸循环以及氧化磷酸化途径在线粒体中进行，代谢过程需氧，呼吸底物被彻底氧化为 $H_2O$ 和 $CO_2$。在呼吸代谢途径中，除少数底物水平的磷酸化外，呼吸底物逐步氧化降解，所释放的自由能首先被贮存在 NADH 和 $FADH_2$中，经过电子传递链的电子传递，形成跨线粒体内膜的质子电化学势梯度，并利用它合成 ATP。虽然植物的呼吸代谢途径与其他生物的呼吸代谢途径并没有根本的差别，但是在植物代谢途径中的也有一些特殊的酶催化不同的代谢步骤。特别是植物的电子传递中存在不同于细胞色素途径的交替途径。除了线粒体的末端氧化外，植物中还有非线粒体的氧化途径。呼吸代谢并非呼吸代谢途径的简单组合，在各呼吸代谢途径中都有关键的调节部位，以控制和协调整体呼吸代谢的进行。许多代谢途径的中间产物，例如 PEP 和丙酮酸对代谢的关键调节酶有重要的调节作用，特别是 ADP、ATP 和 NAD、NADH 对呼吸代谢途径有广泛的调控作用。植物的呼吸作用与植物的种类、不同器官、生理状况等等都有很大的关系，并且受到各种外界条件的影响。

## 思考题

(1) 什么是呼吸作用? 测量植物呼吸作用的指标有哪些?

(2) 植物如何进行淀粉和蔗糖的降解?

(3) 比较植物和动物的糖酵解和三羧酸循环,说明其不同之处。

(4) 丙酮酸是如何进入线粒体并进行氧化反应的?

(5) 什么是氧化磷酸化? 氧化磷酸化的基本过程是如何进行的?

(6) 什么是交替途径,它是如何进行的?

(7) 植物体中有哪些非线粒体的末端氧化体系?

(8) 什么是化学渗透学说?

(9) ATP 是如何合成的?

(10) 植物的呼吸代谢途径有哪些调控位点?

# 第九章　植物的次生物质代谢

植物体内存在一些虽然与植物生长发育无直接关系、但对植物适应不良环境或抵御病原物侵害以及植物的代谢调控等有重要作用的种类繁杂的有机物，称为次生代谢物(secondary metabolite)，又称次生产物(secondary product)或天然化合物(natural product)。与叶绿素、氨基酸、核苷酸、糖类以及膜脂等初生代谢物(primary metabolite)不同，次生代谢物在已知的生理过程中，如光合作用、呼吸、同化物运输以及生长分化等过程中没有明显的或直接的作用。此外，次生代谢物的产生和分布往往局限在某一个或分类学上相近的几个植物种类，而初生代谢物存在于所有植物中。

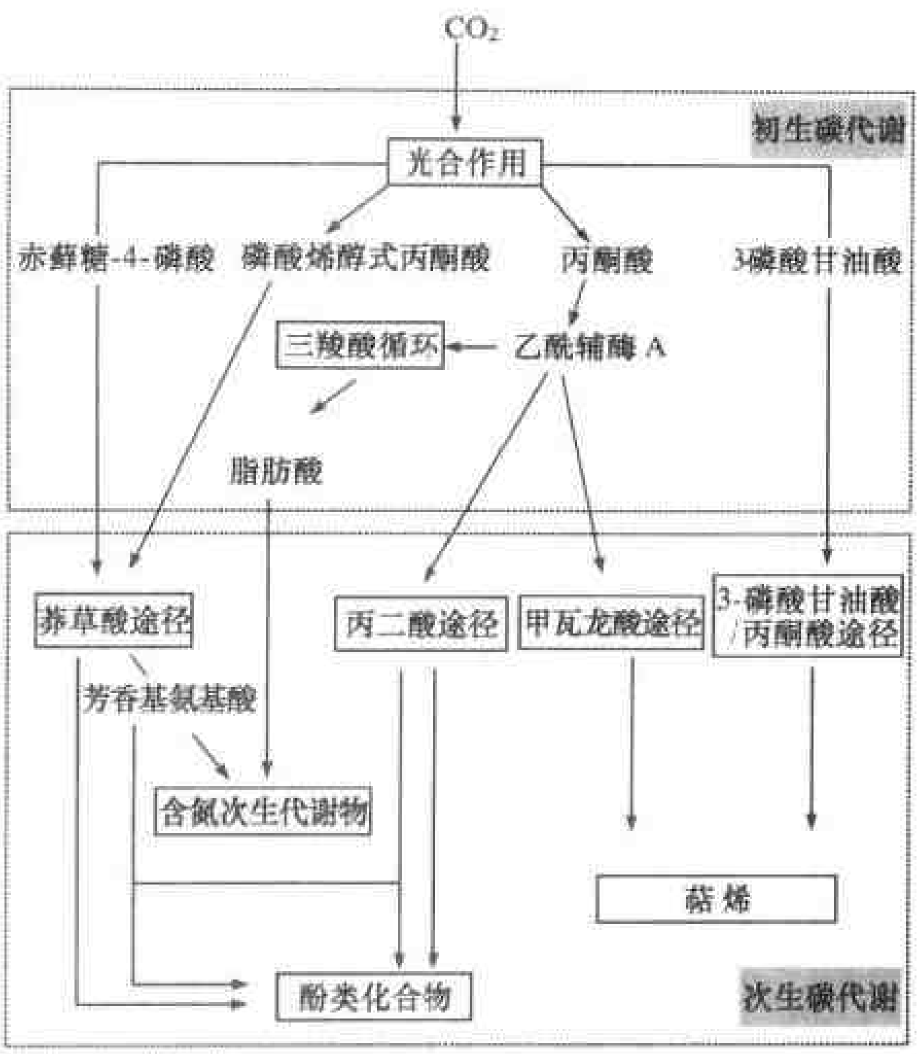



图 9-1　植物次生代谢产物的主要生物合成途径及其与初生代谢的关系

植物次生代谢物不仅可以作为药物、香料以及工业原料使用，而且在植物的生态适应性方面具有重要意义。其中最重要的功能之一是赋予植物防御功能，如抑制草食动物的采食和致病微生物的感染；另外，次生代谢物还可以诱引昆虫和动物进行传粉和种子传播；植物之间的异株克生现象也与次生代谢物有关。

植物的防御功能是经过长期的自然进化获得的，对其生态适应能力具有十分重要的意义。基础代谢的随机变异产生了对草食动物或致病微生物具有刺激或毒性作用的防御物质，只要这些物质对植物本身没有过多的毒性，并且对植物本身的代谢不造成太大的压力，那么具有这些防御物质的植物就会比不具备它们的植物具有更强的生存能力，能够在严酷的生存竞争中延续后代。

根据植物次生代谢物的化学结构和性质，可将其分为三大类：萜烯类(terpene)、酚类(phenolic)和含氮化合物(nitrogen-containing compound)。图 9-1 简单地表示了植物次生代谢物的生物合成途径以及它们与初生代谢之间的关系。萜烯类化合物是从乙酰辅酶 A 或糖酵解产物合成而来；酚类化合物是莽草酸途径(shikimic acid pathway)或甲瓦龙酸途径合成的芳香族化合物；含氮次生代谢物如生物碱主要是从氨基酸合成而来。本章的各节中将概要地介绍这些化合物的生物合成途径及其性质、作用。

## 第一节　植物次生代谢物

### 一、酚类化合物及其衍生物

酚类物质广泛地存在于高等植物、苔藓、地钱和微生物中，其芳香环上有若干取代基，如羟基、羧基、甲氧基(methoxyl，—O—$CH_3$)或其他非芳香环结构。属于该类的植物次生产物包括芳环氨基酸、简单酚类、类黄酮和异类黄酮。

## （一）芳环氨基酸

苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸都是芳环氨基酸。与许多酚类物质的合成途径相似，其合成前体是磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)和 4-磷酸赤藓糖(E4P)。其合成途径称为莽草酸途径(图 9-2)，该途径也存在于真菌和细菌中，但不存在于动物中，所以上述三种芳环氨基酸都是动物的必需氨基酸。

目前广泛使用的一种除草剂——草甘膦(glyphosate)的化学结构为 HOOC— $CH_2$—NH—$CH_2$—$PO_3H_2$，它通过抑制 5-磷酸莽草酸和 PEP 结合生成 3-烯醇式丙酮酸基-莽草酸-5-磷酸的反应(图 9-2)来阻断芳环氨基酸的合成，使杂草在吸收草甘膦一到两个星期后因为缺乏芳环氨基酸而死亡。动物体内不存在莽草酸途径，因而草甘膦对人畜无害。

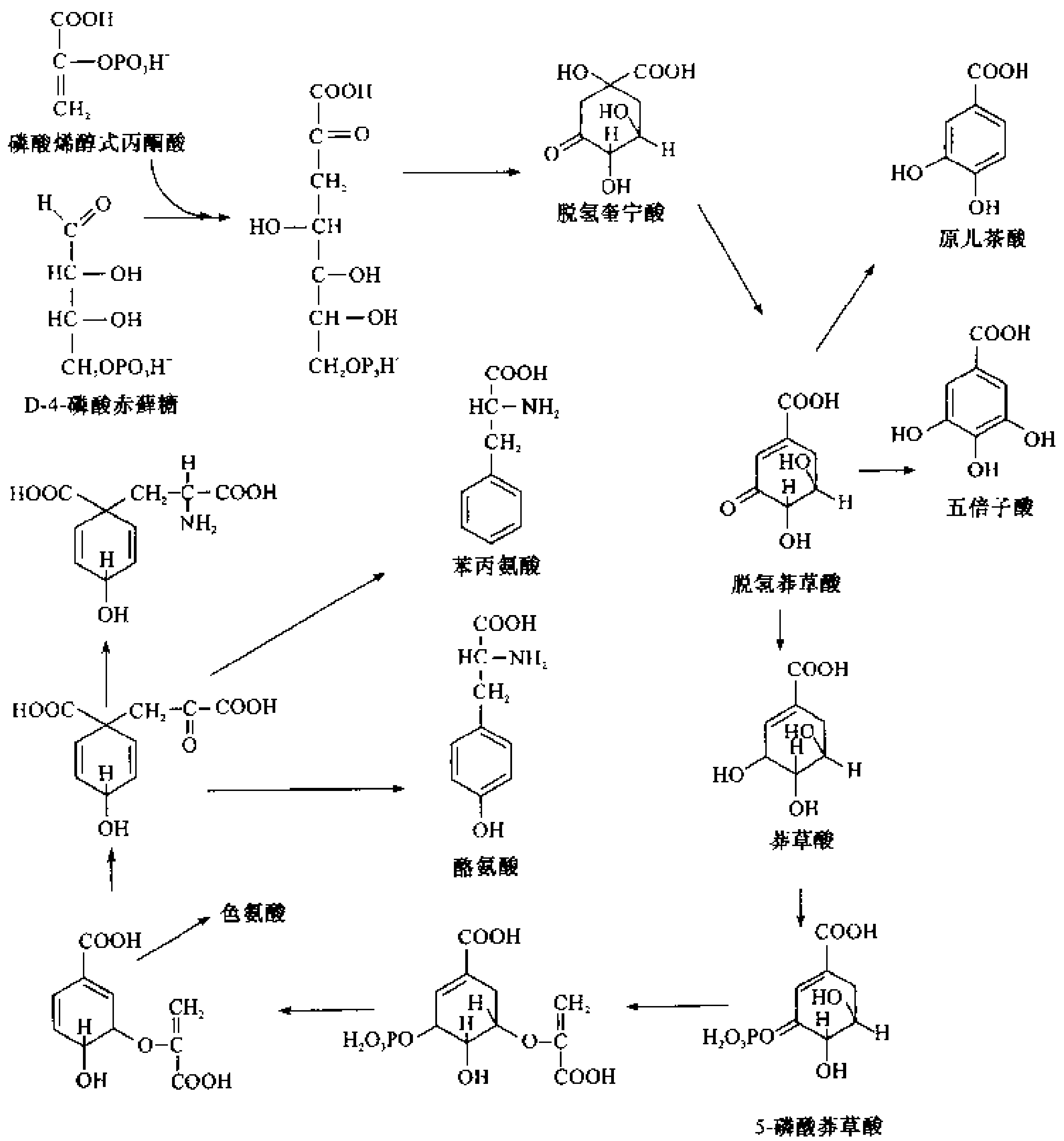



图 9-2　芳环氨基酸的生物合成途径

## （二）简单酚类

通过上述的莽草酸途径及其衍生反应还可以生成其他许多酚类物质，如肉桂酸(cinnamic acid)、

p-香豆酸(p-coumaric acid)、咖啡酸(caffeic acid)、绿原酸(chlorogenic acid)、原儿茶酸(protocatechuic acid)(图 9-3)、没食子酸(gallic acid)等。这些化合物在植物中通常以游离形式存在，它们的衍生物如植保素(phytoalexins)、香豆素(coumarins)、木质素(lignin)以及其他多种黄酮类化合物(flavonoids)都是具有重要意义的次生代谢物。

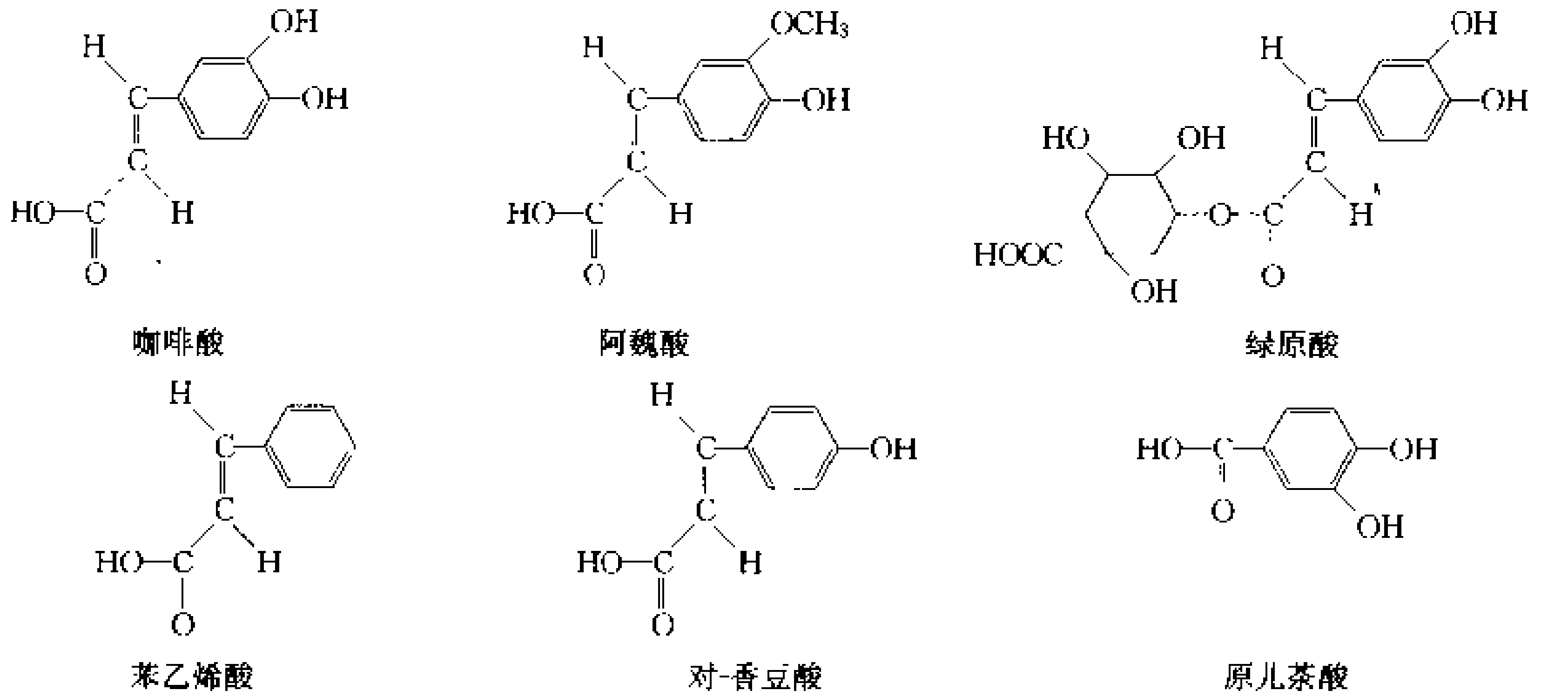



图 9-3 一些简单酚类物质的分子结构

在这些衍生物的生物合成中，最重要的反应步骤是从苯丙氨酸生成香豆酸的反应(图 9-4)。这是一个脱氨反应，受苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia lyase, PAL)的催化。此后，香豆酸从 $O_2$ 获得一个氧原子、从 NADPH 获得一个氢原子，在对位的碳上形成一个羟基，生成对羟基香豆酸；如果在此羟基的邻位上以同样方式再加上一个羟基，即生成咖啡酸；从 S-腺苷蛋氨酸上转移一个甲基到咖啡酸的一个羟基上即生成阿魏酸(ferulic acid)；咖啡酸和奎宁酸(quinic acid)(来源于莽草酸途径)以酯的形式结合，即生成绿原酸。

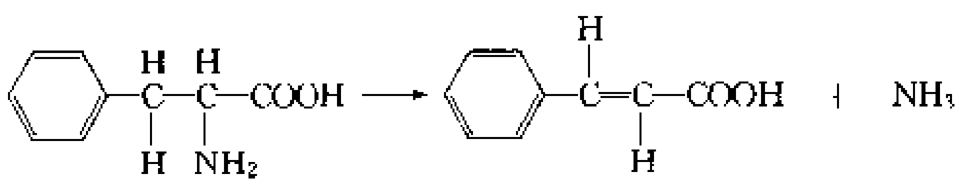


图 9-4 苯丙氨酸裂解酶催化苯丙氨酸的裂解反应

**1. 原儿茶酸和绿原酸**

原儿茶酸和绿原酸在某些植物的抗病过程中具有重要作用。例如原儿茶酸可以防止由真菌[如旋卷刺盘孢(*Colletotrichum circinans*)]感染引起的斑点病，对此病具有抗性的有色洋葱的葱头颈部可以产生大量的原儿茶酸，但是在易感病的白色品种中没有原儿茶酸产生。从有色洋葱中提取的原儿茶酸可以抑制上述真菌及其他真菌的孢子萌发。

绿原酸在植物体内分布很广，而且含量较高，是一种对人体无害的次生代谢物。例如干咖啡豆中可溶性绿原酸含量高达 13%。土豆块茎内也含有大量的绿原酸，在氧气和铜离子存在的情况下容易被氧化，形成褐色或黑色的多聚醌类物质。催化此反应的酶是多酚氧化酶(polyphenol oxidase)，所形成的醌类物质具有抑霉剂(fungistat)作用。所以绿原酸及其氧化多聚物是植物抵抗病菌感染的一种机制，它在抗病品种中含量较多，而且容易发生氧化生成多醌；而在感病品种中绿原酸含量较少，或难以氧化为醌类物质。

**2. 没食子酸**

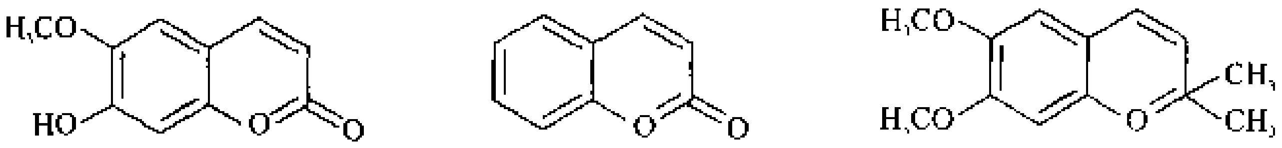
没食子酸是形成植物单宁的主要化合物之一。没食子酸以多种方式相互连接，并与葡萄糖和其

他糖类结合形成杂合的多聚体——没食子鞣质(一种单宁酸)。没食子鞣质及其他单宁酸可以使蛋白质发生交联和变性,严重抑制植物的生长,所以植物通常将产生的单宁酸储存在液泡内,否则会使细胞质内的酶类变性。在制革工业中,单宁常用来鞣制皮革,目的是使皮革内的蛋白质相互交联,抑制细菌的消化和降解。没食子鞣质还能抑制周围其他植物的生长,是一种植物异株克生物质。植物中还存在着大量的其他单宁,对植物的防御作用具有重要意义。例如单宁可以抑制细菌和真菌的侵染;它们还是一种收敛剂(astringency),使动物食后嘴唇发麻,而且可以抑制消化,藉此防止动物的采食。

**3. 香豆素类**

酚类物质的一类重要衍生物是香豆素类化合物(coumarin)。自然界的香豆素类化合物有 1000 种以上,但是在某一特定植物内只有若干种存在。图 9-5 显示了两种香豆素的结构:东莨菪素(scopoletin, 7-羟基-6-甲氧基香豆素)和香豆素。

植物在衰老或受伤时,会降解体内的香豆素葡萄糖结合物,释放出具有青草味的挥发性香豆素。如紫花苜蓿和甜三叶草(sweet clover)等牧草中含有大量的香豆素,在储存不当发生腐烂时会产生有毒的双香豆素(dicumarol)(又名双杀鼠灵),它是一种抗凝血剂,可以导致牲畜罹患甜三叶草病(sweet-clover disease)。所以筛选低香豆素的苜蓿品种是牧草品种改良的重要目标。




东莨菪素　　香豆素　　preocene 2

图 9-5　几种香豆素类化合物的分子结构

东莨菪素存在于许多植物的种皮内,是种子的天然萌发抑制剂,可以维持种子的休眠状态。在自然状态下,只有经过雨季足量的降雨将其从种皮淋洗出后,种子才能萌发。

## (三) 类　黄　酮

类黄酮(flavonoid)是一种 15 碳化合物,广泛地分布在各种植物中。目前已经鉴定的类黄酮已经超过 2000 种。其基本分子骨架如图 9-6 所示,由于类黄酮的基本骨架中具有多个不饱和键,所以可以吸收可见光,呈现各种颜色。

香豆素和乙酰辅酶 A 是类黄酮的前体物。类黄酮分子结构上通常带有多个羟基,这些羟基和各种糖类结合,增加了类黄酮的水溶性,所以类黄酮一般被储存在细胞的中央大液泡内。

光照,特别是蓝光可以促进类黄酮的合成。例如苹果的着色面往往是朝向阳光的一面,一般认为光通过表皮细胞内的光敏色素启动类黄酮的生物合成。另外,矿质元素缺乏,如缺磷、硫和氮也容易诱导某些植物形成花色素积累。

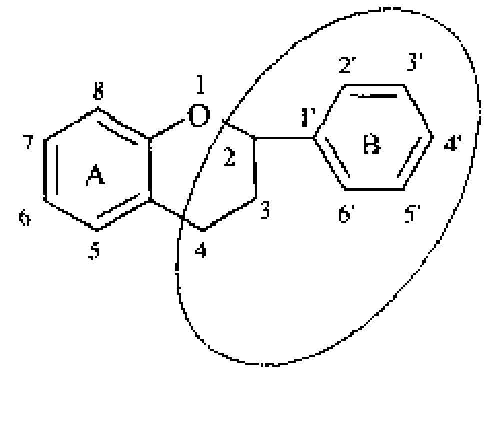



图 9-6　类黄酮类化合物的基本结构

在植物生理学中比较有意义的类黄酮有三类,它们分别是花色苷(anthocyanin)、黄酮醇(flavonol)和黄酮(flavone)。

**1. 花色苷和花色素**

花色苷一般存在于红色、紫色和蓝色的花瓣中,另外在一些植物的果实、叶片、茎干和根中也有存在。花色苷大量地分布在植物的表皮细胞中。花和果实的颜色主要是由其中所含的花色苷颜色决定的。晚秋时节,光照良好、温度较低的气候条件,有利于花色苷的大量积累,使树叶呈现鲜艳的颜色。但是在某些黄色或橙色的花和叶片中,类胡萝卜素是呈色的主要物质。

地钱、藻类等低等植物中不含花色苷，但是苔藓和裸子植物中含有少量的花色苷和其他一些类黄酮物质。高等植物中含有多种花色苷，有时在一朵花中同时存在两种以上的花色苷，使之呈现不同的颜色组合。

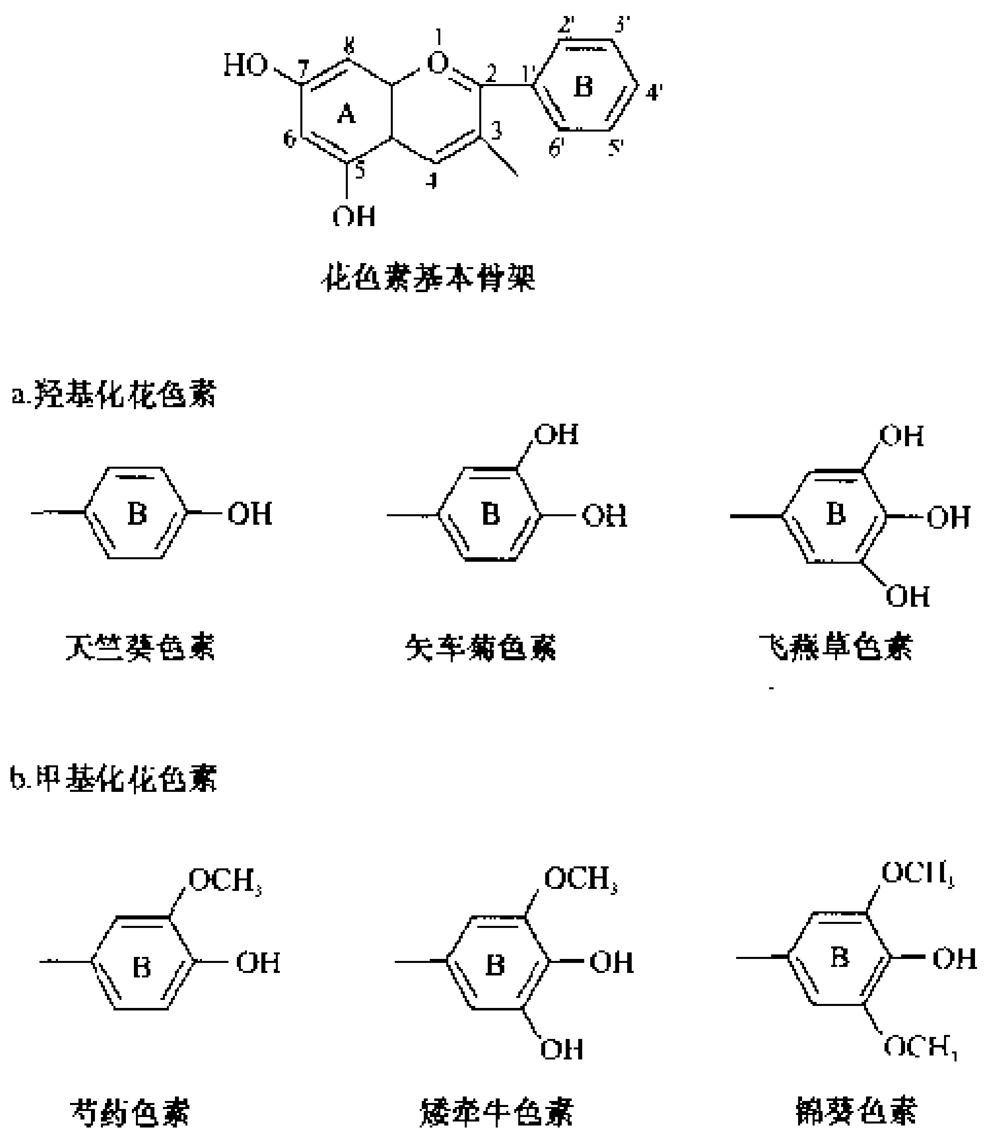



图 9-7　几种主要花色素的分子结构

在植物细胞内，花色苷一般是以糖苷的形式存在的，与糖基解离的花色苷剩余部分称为花色素(anthocyanidin)。

一个花色素分子上可以结合 1～2 个葡萄糖或半乳糖，糖基的结合位置一般在中央环的羟基上，或者 A 环的 5 位的羟基上(图 9-7)。花色素主要是依据其来源植物命名的。例如最常见的是矢车菊色素(cyanidin)，最初是从蓝色矢车菊花(*Centaurea cyamus*)中提取的；天竺葵色素(pelagonidin)是从红色天竺葵(*Pelargonium*)中提取的；飞燕草色素(delphinidin)是从飞燕草(*Delphinium*)中提取的。其他一些重要的色素有红色的芍药色素(peonidin)、紫色的矮牵牛色素(petunidin)和紫红色的锦葵色素(malvidin)。

不同花色素的分子结构的差异仅是 B 环上取代羟基数目的不同。花色素的颜色与取代羟基数目有关，同时还受 pH 的影响。许多花色素在酸性 pH 条件下为红色，随着 pH 的升高会变成蓝色或紫色。例如前述的飞燕草花瓣表皮细胞液泡内的 pH 在衰老过程中从 5.5 上升到 6.6，其中的花色素的颜色则从紫红色变为蓝紫色。

花色素在植物中存在的广泛性和丰富性，证明花色素是植物长期进化选择的结果。目前认为，花色素的功能主要是作为诱引色，吸引昆虫或动物采食，协助传粉和传播种子。

**2. 黄酮醇和黄酮**

黄酮醇和黄酮与花色素的结构非常相似，主要的区别在于中间含氧环的结构不同(图 9-8)。

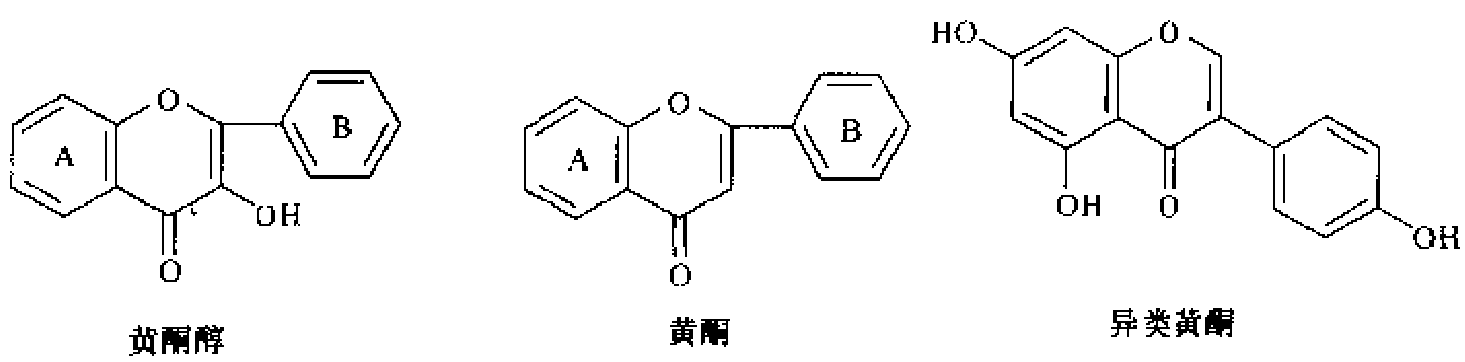



图 9-8　黄酮醇、黄酮和异类黄酮的结构

大部分的黄酮醇和黄酮呈淡黄色或象牙白色，和花色素一样也是植物花的呈色物质。一些无色的黄酮醇和黄酮可以吸收紫外线，某些昆虫如蜜蜂可以看见部分紫外波段的光线，所以含黄酮醇和黄酮的花可以诱引这些昆虫采食传粉。这些物质还存在于叶片内，对动物起拒食剂的作用。由于黄酮醇和黄酮可以大量吸收紫外线，可以保护植物叶片不受长波紫外线的危害。

**3. 异类黄酮**

类黄酮的类似物异类黄酮(isoflavonoid)存在于某些植物品种中,尤其是蝶形花亚科豆荚属植物中大量存在。异类黄酮和类黄酮的区别在于B环和中间环的结合位置不同(图 9-8)。

异类黄酮的功能尚未完全阐明。但已知某些种类的异类黄酮是种间化学物质(allcochemics),即对其他动植物具有排斥或诱引作用的化学物质。例如鱼藤(*Derris elliptica*)根中所含的鱼藤酮(rotenone)就是一种异类黄酮,是常用的一种杀虫剂。异类黄酮的结构与某些动物雌激素(如雌二醇,estradiol)的结构相类似,所以植物异类黄酮可以导致某些雌性动物患不育症。

异类黄酮还是一种植保素,在植物受病原菌感染后迅速产生,抑制病菌的进一步生长。

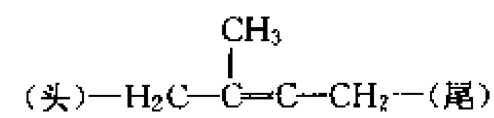
## 二、萜 烯 类

植物萜类化合物是由五碳的异戊二烯单元构成的化合物及其衍生物,也称为异戊间二烯化合物(isoprenoid),或萜烯类化合物(terpenoid),或萜烯(terpene)。通常将分子结构中不含氧原子,只含碳氢原子的异戊间二烯化合物称为萜烯。萜烯类化合物包括植物激素中的赤霉素和脱落酸、黄质醛(脱落酸生物合成的中间体)、甾醇(sterol)、类胡萝卜素(carotenoid)、松节油(turpentine)、橡胶(rubber)以及作为叶绿素尾链的植醇(phytol)。

目前在植物中已经发现了数千种萜烯类化合物。大部分萜烯类化合物在植物体内的功能尚不清楚,其中有一些萜烯类化合物为种间化合物,可以对其他植物或动物发生影响。例如植物释放萜烯类物质抑制其他植物的生长,即异株克生现象(allelopathy);含某些萜烯类化合物的植物可以防虫或者减少草食动物的采食。

萜烯类化合物包括异戊二烯头尾相连形成的的单萜(C10, monoterpene)、倍半萜(C15 sesquiterpene)和多萜([C5]$n$,$n > 10$,polyterpenoid)。

异戊二烯的合成有两条途径,一条是甲瓦龙酸途径(mevalonic acid pathway)。在该途径中,三个乙酰辅酶A经过聚合反应生成6碳的中间产物,再经过焦磷酸化、脱羧反应和脱水反应生成异戊二烯焦磷酸(IPP)。IPP是所有萜烯类化合物生物合成的基本反应单元。最近的研究发现IPP的合成还存在另一条途径,即3-磷酸甘油酸/丙酮酸途径(3-phosphoglycerate/pyruvate pathway)(Lichtenthaler et al. 1997)。该途径主要存在于叶绿体和其他质体内。在这条途径中,糖酵解和光合碳同化代谢的中间产物3-磷酸甘油酸和丙酮酸相互反应,最后生成IPP。



异戊二烯单位

萜烯类的研究非常有意义,主要是因为其中许多化合物具有商业应用价值,而且这些复杂的化合物不能被动物或人工合成。

### (一) 甾 醇

所有的甾醇[sterol(也称类固醇,steroid alcohol)]都是由6个异戊二烯单元组成的三萜类化合物(triterpenoid)。现在自然界中共发现大约150种甾醇化合物。图9-9表示了几种常见植物甾醇的化学结构。甾醇可以以糖苷(glycoside)形式存在,还可以和脂肪酸结合形成甾醇酯。

除了细菌之外,所有生物的细胞膜内都有游离的甾醇存在。细胞膜内的甾醇起着增强膜结构稳定性的作用,这也是甾醇的主要生物功能之一。但是甾醇糖苷或甾醇酯在膜中不存在,它们的功能目前尚不清楚。

甾醇类化合物在植物的防御功能上具有重要意义。例如,强心苷(cardiac glycoside)是一种甾醇衍生物,动物采食后可以导致心脏病发作,但在医疗中被用作强心剂,在心脏衰竭时增加心脏搏动力量和降低心率。洋地黄毒苷(digitoxin)和异羟基毛地黄毒苷(digoxin,也称地高辛)是对人类意义重

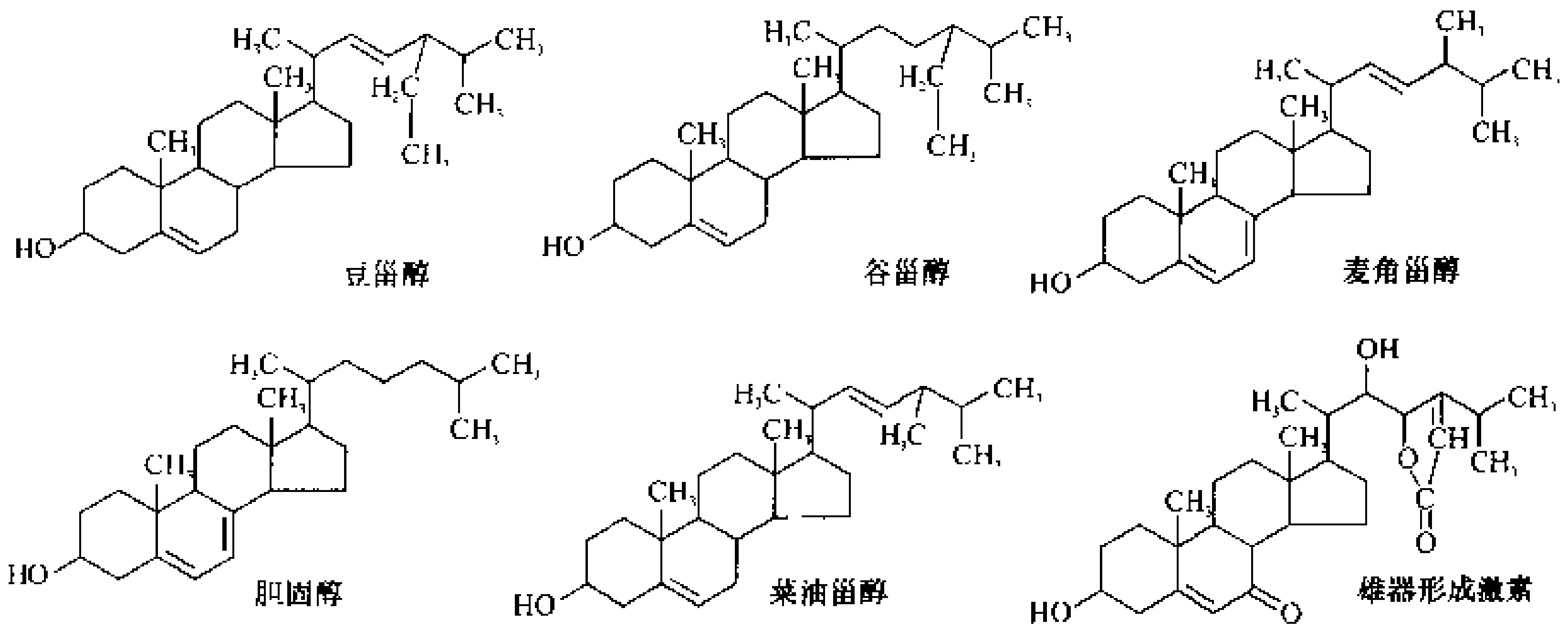



图 9-9　几种甾醇类化合物的结构

大的甾醇化合物，它们是从洋地黄属植物及其他植物中提取的。其中毛洋地黄苷(digilanide)在古代就被用来做箭毒。这些甾醇的毒性主要是因为它们能抑制心肌内的 $Na^{+}$-$K^{+}$ ATPase 的活性。地高辛可以作为强心剂，治疗由于高血压和动脉硬化导致的心脏衰竭，是心脏病人的常规用药。

植物甾醇类化合物是许多动物激素的合成前体，包括雌激素孕酮和一些昆虫的蜕皮激素(ecdysone)。油菜素内酯(braassinolide)是对植物生长发育十分重要的甾醇，已经被正式确认为甾类植物激素(参见第十二章)。油菜素内酯和某种昆虫的蜕皮激素结构完全相同。

## (二) 类胡萝卜素

类胡萝卜素(carotenoid)广泛地分布在植物的各种器官内，存在于细胞内的有色质体(chromoplast)中，呈黄色、橙色或红色。类胡萝卜素与植物的光合作用有密切的关系。

类胡萝卜素有两种类型，一类是胡萝卜素(carotene)，只含有碳氢两种元素；另外一类是叶黄素(xanthophyll)，分子中含有 2～4 个氧原子。两种类型的类胡萝卜素都是由 8 个异戊二烯单元构成的具有 40 碳的分子。类胡萝卜素不溶于水，易溶于有机溶剂。

自然界中存在有 400 余种类胡萝卜素，但是在某一特定植物中往往只有几种存在。其中 β-胡萝卜素(β-carotene)是高等植物中含量最为丰富的一种类胡萝卜素，胡萝卜的橙黄色就是因为富含 β-胡萝卜素的缘故；而番茄红素(lycopene)是赋予番茄红色的物质；α-叶黄素是所有植物叶片中含量最丰富的叶黄素。上述几种典型的类胡萝卜素的化学结构如图 9-10 所示。

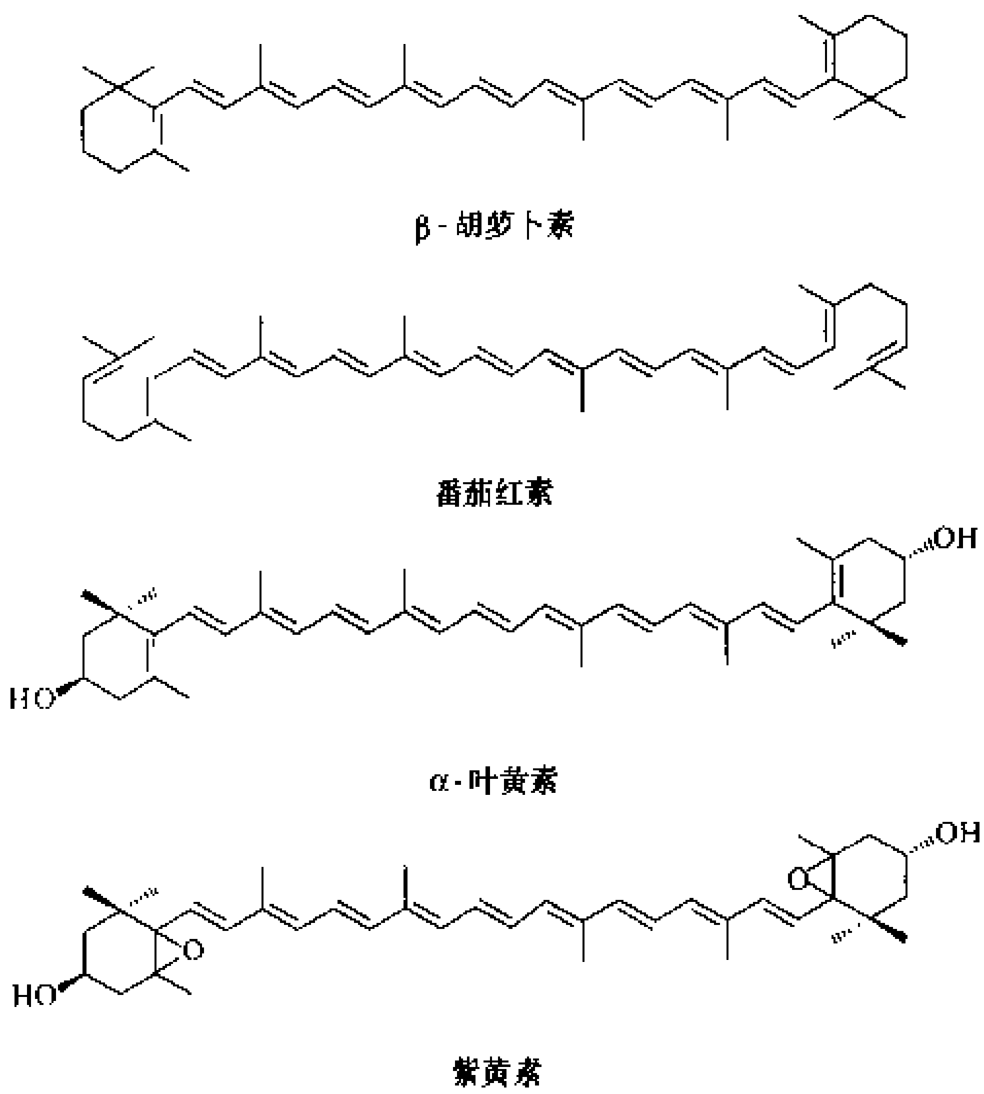



图 9-10　植物中几种重要的类胡萝卜素的分子结构

有关类胡萝卜素的生物功能研究较多。在光合作用一章中已经提到，类胡萝卜素一方面可以作为捕光色素参与光合作用，另一方面可以保护叶绿素免受强光降解。一些黄色叶片中含有大量的叶

黄素类类胡萝卜素，据认为具有帮助吸引昆虫授粉的意义；叶黄素的一种——紫黄素（violaxanthin）是植物激素脱落酸的合成前体。β-胡萝卜素在动物肝脏内被转化为维生素 A，并作为一种抗氧化剂，具有猝灭自由基的功效。

## （三）植物精油和其他萜烯类化合物

许多含 10～15 碳的萜烯称为植物精油（essential oil），因为它们通常具有挥发性和较强的气味。例如在橘皮中就存在着 71 种挥发性的植物精油，其中大部分是单萜，主要是柠檬油精（limonene）。植物精油是香料和香精制造中的重要原料。植物花朵中的精油还有诱引昆虫采蜜，协助授粉的功能。

植物体内释放的挥发性精油（包括异戊二烯自身）的量非常惊人，在森林上空常常会形成烟雾，甚至会造成一定的空气污染。据测算，每年地球上植物释放出的挥发性物质大约有 14 亿吨，其中大部分是碳氢类萜烯化合物。在美国田纳西州、北卡罗来纳州以及澳大利亚等地区经常形成的蓝色山雾，就是因为空气中的萜烯类化合物颗粒对蓝光的散射造成的。

最知名的一种植物精油是松节油（turpentine），大量地存在于松属（*Pinus*）植物的一些特殊细胞内。松节油的主要成分是 n-庚烷，同时也含有大量的单萜类化合物，如 α-蒎烯（α-pinene）、β-蒎烯和莰烯（camphene）（图 9-11）。这些化合物以及其他一些萜烯类化合物，如香叶烯（myrcene）和柠檬油精，是植物防御松节虫（bark beetle）的重要武器。松节虫是针叶林的杀手，每年都给世界各地的林业生产造成巨大的损失。在松属植物中，柠檬油精是昆虫拒食剂（insect repellant）。与此相反，α-蒎烯是松树吸引昆虫聚集的信息素（aggregation pheromone）。所以，柠檬油精含量高而 α-蒎烯含量低的松树就不易受到松节虫的侵害。

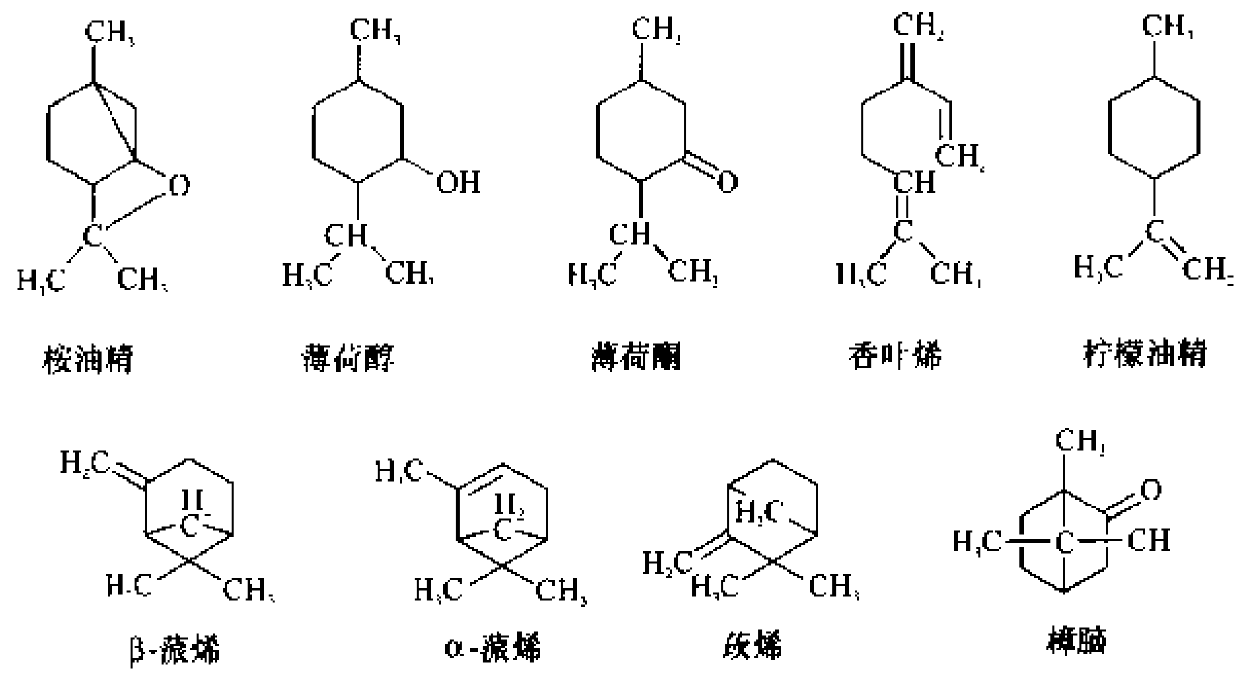



图 9-11　几种植物精油成分的分子结构

植物精油经常含有羟基等化学修饰基团。例如薄荷油（mint oil）中的薄荷醇（menthol）、薄荷酮（menthone）都是单萜的衍生物。图 9-11 所示的是这些精油成分的分子结构。其中的桉油精（cineole）是兰花诱引雄蜂采蜜协助授粉的重要成分。

树脂（resin）是 10～30 碳萜烯的混合物，广泛存在于针叶植物和许多热带被子植物中。树脂在一种特殊的叶片上皮细胞中合成，通过相连的导脂管聚集、分泌，保护植物抵御昆虫侵害。

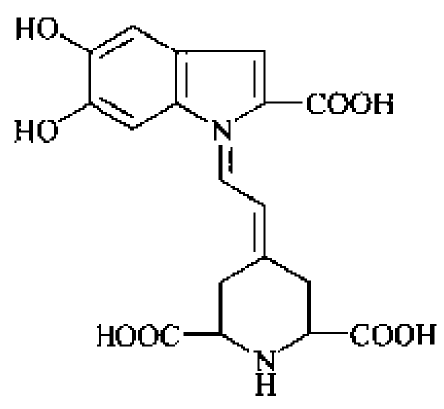
橡胶含有 3000～6000 个异戊二烯单元组成的无分支长链，是分子最大的异戊二烯类化合物。天然橡胶是一种热带大戟属植物三叶胶树（*Hevea brasiliensis*）分泌的一种乳状的细胞原生质，胶乳中大约含有三分之一的纯橡胶。目前世界上发现大约 2000 种产胶植物，有很多被用作橡胶原料植物。

## 三、含氮化合物

植物的许多次生代谢物分子结构中含有氮原子。主要的含氮次生代谢物包括生物碱、生氰苷、葡萄糖异硫氰酸盐、非蛋白氨基酸和甜菜素。这些物质对动物具有重要生理作用，也是参与植物防御反应的重要物质。

### （一）甜　菜　素

甜菜素(betalain)是一类含氮的色素，呈黄色或红色，存在于石竹科(*Caryophyllales*)的少数植物(大约10种左右)中。甜菜块根中的甜菜红素(betacyanin)就是甜菜素的一种。




甜菜素

图 9-12　甜菜素的分子结构

甜菜素不仅与花色素的化学结构完全不同，而且两者在同一植物中也不同时存在。甜菜素存在于植物的花、果、叶片甚至茎中，随着种类的不同和细胞内 pH 值的不同，呈现从黄色、橙色到红色、紫色的各种颜色。

甜菜素的合成和花色素一样，也受光照的促进。甜菜素通常含有一个糖基，糖基解离后的有色部分称为甜菜苷配基(betanidin)，其结构如图 9-12 所示。

甜菜素的生物功能与花色苷的功能类似，即作为呈色物质，诱引昆虫等动物采食和传粉。

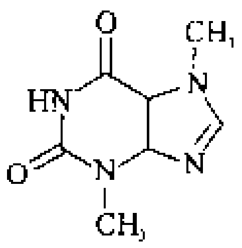
### （二）生　物　碱

生物碱(alkaloid)是植物中广泛存在的一类含氮次生代谢物，分子结构中具有多种含氮杂环。其分子中的氮原子具有结合质子的能力，所以生物碱呈碱性。生物碱多为白色晶体，具有水溶性。生物碱对人和动物具有特殊的生理和精神作用，在植物中也具有十分重要的生理功能。

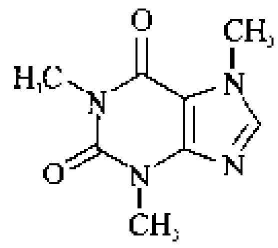
目前在4000余种植物中发现了大约3000多种生物碱。自然界20%左右的维管植物含有生物碱，其中大多数是草本双子叶植物。单子叶植物和裸子植物很少含生物碱。最早发现的生物碱是1805年从罂粟中提纯的吗啡(morphine)，其他广为人知的生物碱有烟草中的尼古丁(nicotine)、古柯树叶中的可卡因(也称古柯碱)(cocaine)、柏树树皮中的奎宁(quinine)、咖啡豆和茶叶中的咖啡因(caffeine)、可可豆中的可可碱(theobromine)、秋水仙(*Colchicum byzantinum*)中的秋水仙素(colchicine)、有毒植物黑茄(*Atropa belladonma*)中的莨菪碱(atropine)、存在于一种仙人掌花瓣中的致幻剂麦斯卡林(mescaline)、燕草属植物中存在的一种有毒的牛扁碱(lycoctonine)。这些生物碱的结构如图 9-13 所示。

绝大多数生物碱都在植物茎中合成，但是也有少数生物碱，如尼古丁，是在根中合成的。生物碱生物合成的前体是一些常见的氨基酸，如天冬氨酸、赖氨酸、酪氨酸和色氨酸。还有一些生物碱，如尼古丁及其类似物是以鸟氨酸为合成前体的。生物碱分子中还有一部分是通过萜烯的合成途径合成的。在生物碱的生物合成研究中，烟草的主要成分尼古丁的生物合成研究得比较透彻。尼古丁由两个环状结构组成，其中的五元环吡咯环是由鸟氨酸衍生而来的；六元环嘧啶环是烟酸衍生而来的，而烟酸是由天冬氨酸和3-磷酸甘油酸合成的。

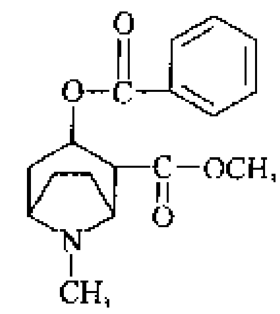
生物碱曾被认为是植物的代谢废物，但是现在认为是植物的防御物质，因为大多数生物碱对动物具有毒性。例如狼草(*Lupinus*)、飞燕草(*Delphinium*)和千里光草(*Senecio*)等都是含有毒生物碱的植物。由于家畜不像野生动物那样对有毒植物有天然的选择性，所以在草原上放牧的牲畜常因误食含有毒生物碱的植物而丧命。



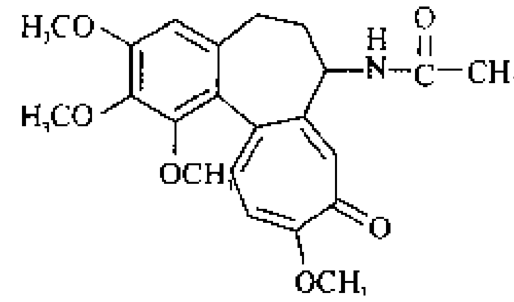
可可碱



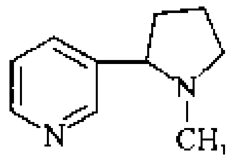
咖啡因



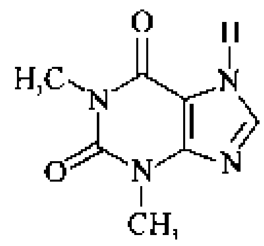
可卡因



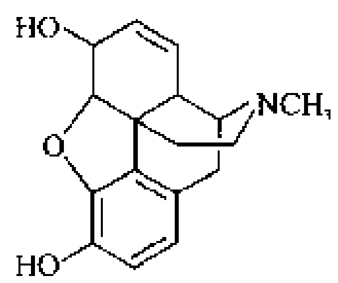
秋水仙素



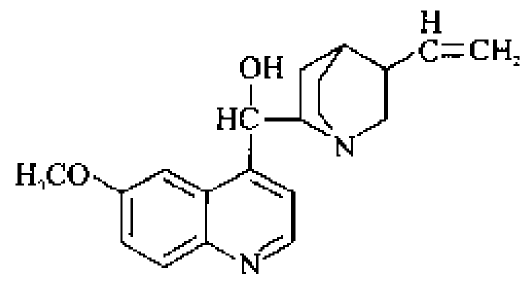
尼古丁



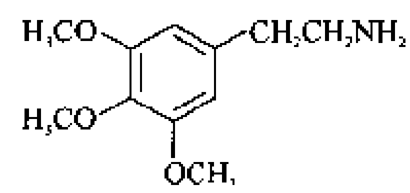
茶碱



吗啡



奎宁



麦斯卡林

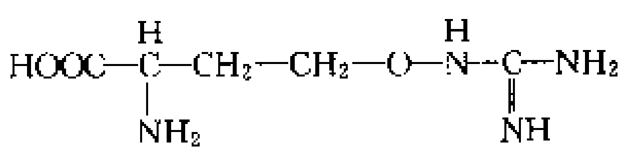
图 9-13 几种生物碱的分子结构

几乎所有的生物碱对人都是有毒的。例如士的宁、阿托品等都是传统的毒药；但是在低剂量条件下，许多生物碱具有药理学价值。例如，吗啡、可待因(codeine)、颠茄碱、麻黄素等被广泛应用在医药中。又如，人们通过饮用茶和咖啡，或者通过抽烟来摄取可卡因、尼古丁和咖啡因等，达到刺激或镇静的目的。

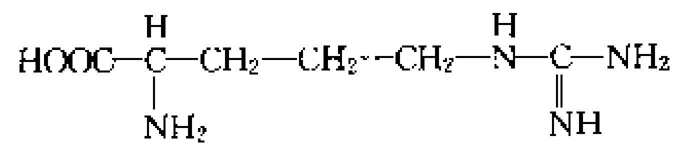
生物碱在动物中的作用模式比较复杂。许多生物碱可以干扰神经信号传递，或影响膜的运输、蛋白质合成以及酶活性等。

## （三）非蛋白氨基酸

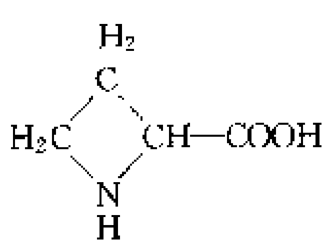
植物和动物的蛋白质氨基酸大约有 20 种，但是植物含有一些所谓的"非蛋白氨基酸"(nonprotein amino acid)，这些氨基酸不被结合到蛋白质内，而是以游离形式存在，起防御作用。非蛋白氨基酸在结构上与蛋白氨基酸非常相似，例如刀豆氨酸(canavanine)的结构与精氨酸相近，铃兰氨酸(azetidine-2-carboxylic acid)与脯氨酸结构相近(图 9-14)。



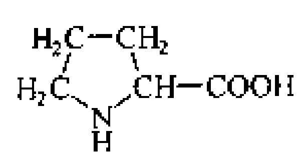
刀豆氨酸



精氨酸



铃兰氨酸



脯氨酸

图 9-14 植物中的非蛋白氨基酸与蛋白氨基酸的比较

非蛋白氨基酸对动物有很大的毒性，它们可以抑制蛋白质氨基酸的吸收或合成，或者被结合进正常蛋白质，导致蛋白质功能的丧失。例如刀豆氨酸被草食动物摄入后，可以被精氨酸 tRNA 识别，在蛋白质合成过程中取代精氨酸被结合进蛋白质的肽链内，导致酶催化部位的立体构造的紊乱，丧失与底物结合的能力或丧失催化生化反应的能力。

但是合成刀豆氨酸的植物体内有完善的辨别机制，可以区别刀豆氨酸和精氨酸，从而避免刀豆氨酸被错误地结合进正常蛋白质；那些以刀豆为食的昆虫体内也有类似的辨别机制。

### （四）生　氰　苷

生氰苷（cyanogenic glycoside）是植物的防御物质，其本身并没有毒性，但是当含生氰苷的植物被损伤后，会释放出有毒的氢氰酸（HCN）气体。

生氰苷存在于多种植物内，最常见的有豆科植物、蔷薇科植物等。生氰苷的裂解和氢氰酸的释放是酶促过程，植物中的糖苷酶（glycosidase）和氰醇裂解酶（hydroxynitrile lyase）是催化生氰苷释放氢氰酸的两种酶（图 9-15）。一般情况下，植物体内的这些酶与生氰苷的存在位置不同，例如高粱中的生氰苷存在于表皮细胞的液泡内，而上述裂解酶存在于叶肉细胞内，只有当植物叶片被损伤（如被动物嚼食）时才会使生氰苷与裂解酶混合发生反应，释放毒气。

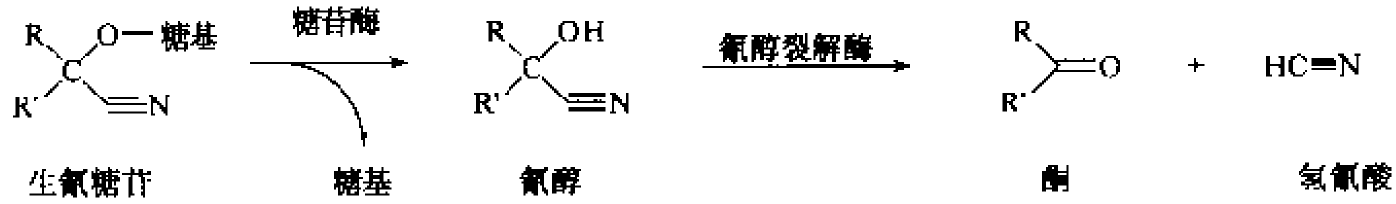



图 9-15　生氰糖苷产生氢氰酸的反应过程

在非洲一些国家里，人们以淀粉含量很高的木薯（*Manihot esculenta*）作为主食，但是木薯中也含有大量的生氰苷。传统的加工方法，如粉碎、浸泡和干晒等，虽然能去掉大部分的生氰苷，但是仍有少量残存，所以这些地区的人经常发生生氰苷慢性中毒。利用育种或生物技术的方法可以筛选低生氰苷含量的木薯品种，但是完全不含生氰苷的木薯抗病性和耐储存性都较差。

# 第二节　植保素和木质素

## 一、植　保　素

20 世纪 60 年代发现，许多植物在受到微生物，特别是真菌侵染时会合成一些抗菌物质，并在感染处积累。这些物质和动物中的抗体一样，起着抵御入侵微生物的作用。它们对微生物没有特异性，但对真菌的毒性比对细菌的毒性要大。这些物质总称为植保素（phytoalexin）。产生植保素是所有植物抵御微生物侵染的共同机制，但是不同的植物种类产生的植保素种类可能有所不同，例如豆科中的植保素多为异黄酮类（isoflavonoid），而茄科中多为倍半萜类（图 9-16）。植保素的化学种类比较繁杂，包括大豆根系中的大豆抗毒素（glyceollin）、豌豆豆荚中的豌豆素（pisatin）、大豆豆荚中的菜豆素（phaseollin）、甘薯根茎中的甘薯酮（ipomeamarone）、兰花块茎中的红门兰醇（orchinol）和红花苜蓿根中的三叶豆紫檀苷（trifolirhizin，或称苜蓿素）等。

目前植物中已经鉴定的植保素有 150 余种，大多数存在于双子叶植物中，单子叶植物和裸子植物中极少存在，无维管植物中不存在植保素。大部分的植保素是经莽草酸途径合成的酚类化合物和苯丙氨酸类化合物；另一些是萜烯类化合物（倍半萜类），还有少量的聚乙炔类化合物。

非致病真菌侵染植物时会诱导有毒植保素大量产生，从而抑制非致病菌在植物体内的生长；而致病真菌仅仅诱导植物产生很低水平的植保素，或者有迅速降解这些植保素的能力，所以能够寄生在植物体内。另外，有些病毒侵染植物时也会诱导植保素的产生。

能够诱导植保素产生的物质称为激发子（elicitor），它同时也诱导植物产生其他形式的抗逆反应。激发子多是植物或病菌的细胞壁多糖片段，其产生主要有两种途径：病菌侵染植物时，病菌内的水解

酶分解植物细胞壁产生多糖片段；病菌侵染植物细胞诱导植物合成特异的水解酶，分解病菌细胞壁产生多糖片段。

植保素在植物受感染之前是检测不到的。但是微生物侵染或者添加外源激发子会迅速激活植保素的生物合成途径，如产生酚类的莽草酸途径和产生萜烯类的甲瓦龙酸途径。同一个激发子可激活不同的植保素合成途径；而不同的激发子也可激活同一条植保素合成途径。研究表明，激发子诱导植保素的合成是在转录水平上进行的，即植物体内没有既存的植保素合成所需的酶类，而是在接受感染或诱导后重新转录相应的 mRNA 并翻译成相应的酶蛋白。

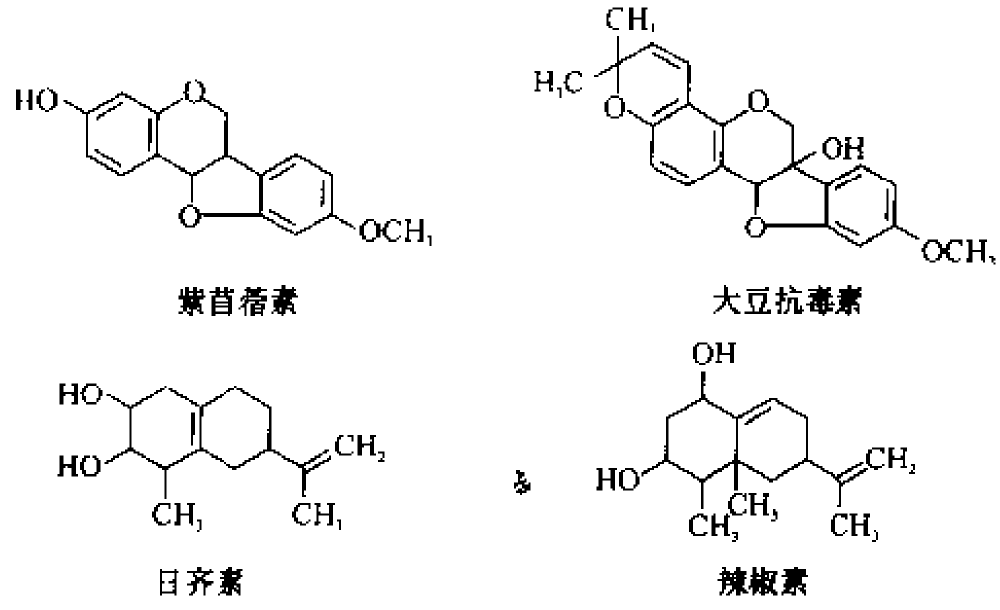


图 9-16　几种植保素的分子结构

尽管植物在受感染后能够积累足够浓度的植保素来抑制病原菌的生长，但是植保素机制在植物防病体系的地位如何，一直存在争议。近年来，转基因植物的研究充分肯定了植保素在植物防病机制中的重要地位。例如，将催化合成苯丙氨酸类植保素白藜芦醇(resveratrol)的酶基因导入烟草，会使转基因烟草对病原菌的抗性远高于对照植物。相反，如果将植保素降解酶基因导入病原菌，会使其感染原来对其具有抗性的植物。

## 二、木　质　素

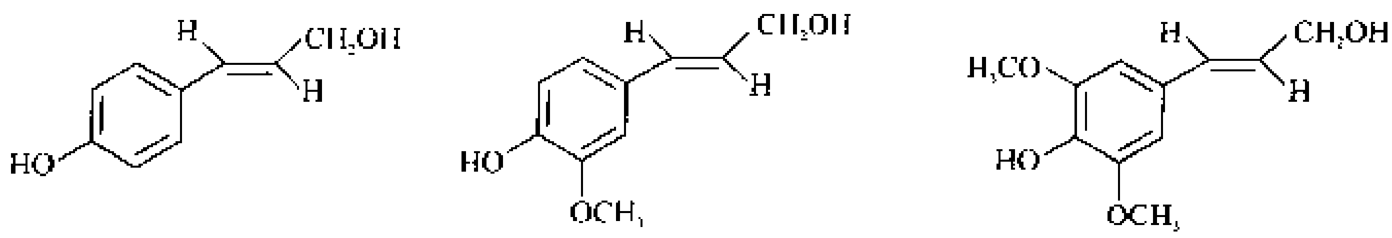
木质素(lignin)是自然界中除了纤维素之外第二丰富的有机物质，在许多木本植物中，木质素占总干重的 15%～25%，是植物细胞壁中的一种骨架物质，存在于纤维素微纤丝之间，起着强化细胞壁的作用。木质部导管分子内木质素含量较高，分布在初生壁、中胶层和次生壁各个部分。

木质素对细胞壁的强化作用，不仅能够使植物保持直立姿态，抗御压力和风力，而且使植物能够形成足够强度的木质部导管分子，进行水分的长距离运输。

木质素还具有防御功能。坚硬的细胞壁有助于抗拒昆虫和动物的采食，即使被采食也难以消化。木质素还可以抑制真菌及其分泌的酶和毒素对细胞壁的穿透能力，感染部位周围细胞壁的木质化还会抑制水分和养分向真菌的扩散，达到抑制真菌生长的目的。除了上述的屏障作用之外，木质素合成过程中产生的活性自由基可以钝化真菌的细胞膜、酶和毒素。

由于木质素的分子质量巨大，并与其他细胞壁多糖上的羟基以醚键等共价键的形式紧密结合，所以它不溶于大部分溶剂中。

木质素主要是由三种芳香醇构成的：松柏醇(coniferyl alcohol)、芥子醇(sinapyl alcohol)、对香豆醇(*p*-coumaryl alcohol)(图 9-17)。针叶树中的木质素含松柏醇较多，而其他木本植物以及草本植物中后两种含量较多。上述三种芳香醇都是由莽草酸途径合成的。首先苯丙氨酸转化为芳香酸，如香豆酸和阿魏酸，然后和乙酰 CoA 以酯键结合，所形成的酯被 NADPH 还原为芳香醇。这些芳香醇以自由基诱导的聚合反应形成多聚体即构成了木质素。催化这个聚合反应的酶是过氧化物酶(peroxidase)。过氧化物酶催化的反应分为两步，首先，过氧化物酶催化 NADPH 和 $O_2$ 反应形成 $H_2O_2$，然后从两个芳香醇的羟基上各夺取一个氢原子与 $H_2O_2$ 结合形成两分子的 $H_2O$，被夺取氢原子的芳香醇形成自由基。芳香环上的不成对电子移动的方式不同，自由基之间的结合方式就不同，因此也形成不同结构的木质素。



对香豆醇　　松柏醇　　芥子醇

图 9 17　形成木质素的三种芳香醇化合物

# 第三节　植物次生代谢的意义及其基因工程

## 一、植物次生代谢的意义

植物次生代谢是大自然长期进化选择的结果，是植物生态适应的重要手段。例如各种植保素、木质素是植物产生抗逆反应的重要物质基础；生物碱、生氰苷等是植物防御动物的有效武器；类黄酮中的花色苷、甜菜素赋予植物花果多彩的颜色，对物种的繁衍起着重要的作用；而一些次生代谢产物如赤霉素、脱落酸、油菜素内酯、水杨酸、茉莉酸又是植物激素和信号分子，对植物生长发育的调控具有重要作用。其他如寄生和共生识别、异株克生等现象无一不与植物的次生代谢有关。

植物次生代谢物为人类提供了大量的医药原料和工业原料。现代人的心血管疾病和癌症的治疗大多依赖植物次生代谢物，如强心苷是心脏病的常规治疗药物，又如红豆杉紫杉醇(taxol)是目前最有效的天然抗癌药物；人参皂甙和银杏黄酮更是传统的保健良药。天然药物的研究已经成为人们寻求解决现代疾病的主要手段。植物次生代谢物在食品工业和化学工业中的应用更为广泛：大部分的天然食品色素来源于植物次生代谢物；紫草素可以用作化妆品颜料；甜菊苷是一种理想的无热量天然甜味剂；杜仲树叶内的杜仲胶具有非常奇特的形状记忆性质，被广泛地应用于医疗化工等领域等等。

上述例子足以说明植物次生代谢物对植物生长发育以及人类福祉具有重要的意义，所以植物次生代谢研究深受重视。特别是现代生物学高度发展的今天，利用细胞工程和基因工程的方法，调节控制植物的次生代谢，已成为人们控制植物生长发育、改良植物品质、增加产量的重要研究手段。

## 二、植物次生代谢的细胞和基因工程

### (一) 作物品质及抗逆性改良

通过调节植物次生代谢改良作物品质有两个方向，一是减少作物内有害次生代谢物含量，二是增加有益次生代谢物含量。前者的例子如减少木薯中的生氰苷含量，减少棉籽中的棉酚含量，减少苜蓿中香豆素含量，减少蔬菜中的木质素含量等；而后者的例子有增加红豆杉中紫杉醇含量，增加香料植物中香料物质的合成，改变花卉中的花色苷的颜色等。

增加作物中植保素含量可以有效地提高植物的抗病能力。虽然植保素的生物合成是多种酶共同完成的，但是转入植保素生物合成的关键酶可以增加相应植保素的含量。例如，1,2-二苯乙烯合成酶是合成苯丙氨酸类植保素白藜芦醇的关键酶，这种植保素与对灰葡萄孢菌(*Botrytis cierea*)的抗性有关。烟草等大多数植物中均有白藜芦醇生物合成的底物存在，但是缺乏1,2-二苯乙烯合成酶。将花生的1,2-二苯乙烯合成酶基因转入烟草，可以使烟草合成白藜芦醇，增加了对灰葡萄孢菌的抗性。又如，将过氧化物酶基因与烟草花叶病毒的35S启动子相连转入烟草，可以显著增加转基因植物对真菌的抗性，用寄生霜霉(*Peronospora parasitica*)接种后发病症状延迟，孢子萌发受到抑制。

用*O*-甲基转移酶的反义基因转化烟草可以有效地降低植株中木质素的合成，这对未来的蔬菜基因改良很有意义。用基因工程的方法调节植物的次生代谢，还可以改良花卉和香料植物的品质。

## （二）药用植物细胞工程和基因工程

药用植物细胞工程是利用植物细胞大规模培养的方法生产药用次生代谢成分的技术。例如，人参皂甙和紫草素等在我国已成功地实现了商业化生产。其中紫草细胞的发酵罐培养已达到100L规模，有效成分紫草素的含量可达细胞干重的10%以上。

用发根农杆菌(*Agrobacterium rhizogene*)感染植物可以诱导植物毛状根的产生。毛状根具有生长快，培养条件简单，不需外源激素，次生代谢合成能力稳定等优点，而且便于进行突变体筛选。所以用培养转基因毛状根的方法生产次生代谢物已成为研究热点，目前已有100多种植物的发根培养获得成功，例如治疗疟疾的特效药倍半萜青蒿素的供体植物青蒿(*Artemisia annua*)。

东莨菪碱在植物内含量较小，但是药用价值大。东莨菪胺6-β-羟化酶可以催化东莨菪胺转化为东莨菪碱，将该酶基因和35S启动子结合，利用发根农杆菌的Ri质粒作为载体导入颠茄，可以使颠茄毛根中的东莨菪碱含量增加5倍。红豆杉中的二萜环化酶(红豆杉烯合成酶)在体内含量很低，该酶基因已经得到克隆，这为利用基因工程技术提高红豆杉中紫杉醇的合成速率提供了可能。

# 小　　结

植物次生代谢物是与植物初生代谢物在生理功能以及分布上相区别的一类化合物，在植物的防御功能、传粉和种子传播等方面具有重要的生理生态意义。

植物次生代谢物分为三大类：萜烯类、酚类和含氮化合物。

酚类化合物是莽草酸途径(shikimic acid pathway)或甲瓦龙酸途径合成的芳香族化合物；包括芳环氨基酸、简单酚类、类黄酮和异类黄酮。其中芳环氨基酸包括苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸，是动物的三类必需氨基酸；简单酚类中的原儿茶酸、绿原酸在某些植物的抗病过程中具有重要作用，同属于简单酚类的没食子酸和香豆素类化合物有助于植物抗拒动物采食；类黄酮类化合物中的花色(素)苷和黄酮(醇)是植物的主要呈色物质，作为诱引色，吸引昆虫或动物采食，协助传粉和传播种子。

萜烯类化合物是由异戊二烯单元构成的化合物及其衍生物，植物中比较重要的萜烯类化合物包括甾醇、类胡萝卜素、植物精油、橡胶和作为植物激素的赤霉素和脱落酸等。甾醇是三萜类化合物，起着增强细胞膜结构稳定性的作用，在植物的防御功能上具有重要意义，油菜素内酯是甾类植物激素；类胡萝卜素包含胡萝卜素和叶黄素两种类型，类胡萝卜素是光合作用的捕光色素，也是植物的呈色物质和抗氧化物质；植物精油是具有挥发性和气味较强的10～15碳萜烯化合物，具有诱引昆虫传粉和防御功能；橡胶含有3000～6000个异戊二烯单元组成的无分支长链，是分子最大的异戊二烯类化合物。

植物含氮次生代谢物包括生物碱、生氰苷、葡萄糖异硫氰酸盐、非蛋白氨基酸和甜菜素。常见的生物碱有吗啡、尼古丁、可卡因、咖啡因、秋水仙碱、莨菪碱(atropine)等，生物碱参与植物的防御作用，同时对动物具有特殊的生理和精神作用；植物的非蛋白氨基酸如刀豆氨酸、铃兰氨酸等以游离形式存在，起防御作用；在植物被损伤后，生氰苷由糖苷酶和氰醇裂解酶催化释放有毒的氢氰酸气体，是植物的防御物质。

植物在受微生物侵染时合成抗菌物质，并在感染处积累，这些物质称为植保素，是所有植物抵御微生物侵染的共同机制。植保素主要存在于双子叶植物中。大部分的植保素是经莽草酸途径合成的酚类化合物和苯丙氨酸类化合物；另一些是萜烯类化合物(倍半萜类)，还有少量的聚乙炔类化合物。比较重要的植保素有大豆抗毒素、豌豆素、菜豆素、甘薯酮和苜蓿素等。植保素可以被植物或病菌的细胞壁多糖片段等激发子诱导产生。

木质素是植物细胞壁中的一种骨架物质，起着强化细胞壁的作用，其主要生物功能是支持植物抗御风力和压力、抗拒昆虫和动物的采食以及通过屏障作用抑制真菌生长。木质素主要是由莽草酸途径合成的松柏醇、芥子醇和对香豆醇三种芳香醇组成，木质素合成过程中的关键酶是过氧化物酶。

植物次生代谢物对植物生长发育以及人类福祉具有重要的意义，利用细胞工程和基因工程的方法，调节控制植物的次生代谢，已成为人们控制植物生长发育、改良植物品质、增加产量的重要手段。

**思考题**

(1) 什么是植物的次生代谢物？植物次生代谢物的主要种类有哪些？

(2) 植物次生代谢物的主要合成途径有哪些？与植物初生代谢有何关系？

(3) 为什么除草剂草甘磷具有杀草作用，同时对人畜无毒？

(4) 没食子酸对植物防御有什么意义？在制革工业中有什么作用？

(5) 植物内主要的类黄酮物质有哪些？并简述其生理意义。

(6) 植物萜烯类化合物的结构特点是什么？

(7) 举例说明植物的主要萜烯类物质及其生理意义。

(8) 花色素有什么生物功能？

(9) 列举出至少 5 种生物碱的名称。

(10) 非蛋白氨基酸为什么对动物具有毒性？

(11) 生氰苷的毒性机理是什么？

(12) 什么是植保素？什么是激发子？植保素的产生特点是什么？

(13) 木质素的生理功能是什么？

(14) 举两例说明植物次生代谢基因工程的应用。

(15) 植物次生代谢物对植物和人类有何意义？

# 第十章　韧皮部运输与同化物分配

陆生高等植物主要是通过根进行水和矿质元素的吸收，通过叶片进行气体交换和光合作用。根需要叶片光合作用所生产的同化物以满足其功能和生长的需要，而叶片则需要根所吸收的水分和矿质作为光合作用的原料。除此之外，光合作用生产的同化物必须输送到植物的各个部分以满足植物体生长和发育的需要，因此植物所面临的一个重大问题是如何解决地上和地下以及植物体各部分间物质的运输问题。同化物的运输和分配对于农作物产量的形成也是极为重要的，作物产量不仅取决于光合作用产量的高低，同时也取决于光合作用生产的同化物能否高效地进行运输，特别是作物的经济产量还取决于同化物向经济器官分配的比例。

有关水分和矿质元素的运输我们已经在以前的章节分别作了介绍，在这一章中我们将阐述同化物，特别是光合作用的产物在植物体中运输的途径，运输的形式，运输机理和同化物在植物体中的分配等问题。

## 第一节　韧皮部中的同化物运输

高等植物体中的物质运输主要在维管束中进行。植物的维管束主要由木质部和韧皮部构成，木质部是负责将水分和矿质从根向地上部运输的组织，而韧皮部则是负责将光合产物从叶向根以及植物其他部分运输的组织。维管束是植物体的“血脉”，遍布植物体全身，是植物体进行长距离的物质运输和信息传递的根本通道。一旦维管束发生阻断或者断裂而无法修复，植物体就会死亡。在生产实践中，嫁接是否成功也在于砧木和接穗之间的维管束能否重新形成连接。

同化物是指植物通过自身的代谢活动而产生的物质。在本章中我们将主要讨论光合作用所生产的同化物的运输。

### 一、韧皮部是同化物运输的主要途径

韧皮部(phloem)是同化物在植物体内运输的主要途径。

有关同化物在韧皮部进行运输的推测可以追溯到早期植物学家所做的树皮环割的观察。由于树木的韧皮部在树的树皮部分而木质部在树的树干部分，如果将树木或枝条茎部的一圈树皮用手术完全除去，这样韧皮部就会被完全截断而木质部依然畅通。被环割的树或枝条通常可以在相当长时间内正常生活，环割以上的叶的蒸腾照常进行，但是环割以下部位的树皮逐渐枯竭死去，而环割以上部位的树皮则仍然健康，在环割部位上方的树皮会逐渐膨大起来，这是由于在树叶中生产的同化物的运输被阻断并在环割处积累所致。据此可以推测光合作用生产的同化物主要是在韧皮部中进行运输的。

利用放射性同位素示踪的方法可以更加精确地证明同化物是在韧皮部进行运输的。带放射性同位素的物质可以通过多种途径引入植物体内，例如可以在叶面或切除叶片的叶柄直接饲喂带有放射性同位素的蔗糖，也可以用含有放射性碳同位素的 $CO_2$ 饲喂特定叶片，利用植物光合作用固定 $CO_2$ 将放射性同位素引入植物体内。比较常用的方法是饲喂 $^{14}C$ 同位素 $CO_2$ 的方法。经植物叶光合作用固定 $CO_2$ 的作用，放射性同位素 $^{14}C$ 被转化到光合同化物中，因此光合同化物的运输可以通过对其放射性的监测进行研究。对于同位素的监测有放射性测定仪和放射性自显影等方法。利用放射性同位素

的方法已经证明同化物的运输是在植物韧皮部进行的(图 10-1)。

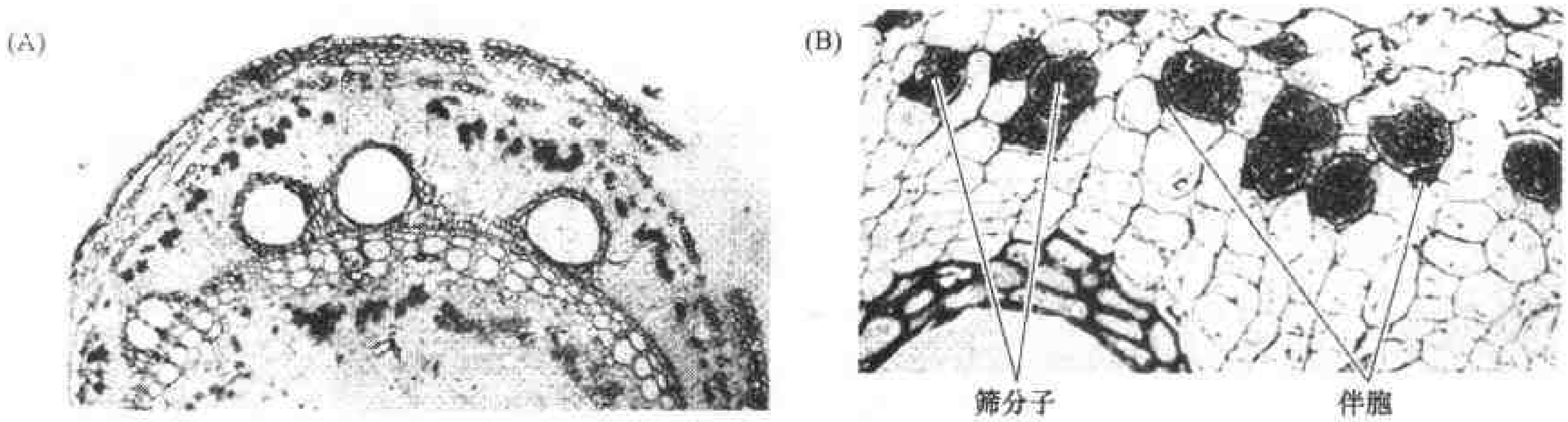



图 10-1　茎组织的放射性自显影图(Taiz & Zeiger　1998)

用$^{14}CO_2$饲喂源叶,$^{14}C$经光合作用被组合到标记糖分子中,并被运输到植物的其他部分。标记糖的定位由图片中的黑色颗粒显示。根据放射性自显影图显示,标记糖几乎完全限于韧皮部的筛分子当中。(A)50×;(B)325×。

## 二、韧皮部的结构

韧皮部的结构是韧皮部运输功能的基础,在其结构被充分阐明之前,韧皮部执行运输功能的过程和机制是无法得到解释的。虽然很早就已经了解同化物是在韧皮部进行运输,但是由于筛管处于较大的压力的状态下(我们将在以后进行讨论),在材料的处理和化学固定过程中极易造成其超微结构的改变,因此对于韧皮部,特别是筛管分子超微结构的阐明还是较近期的事。

韧皮部通常位于初生和次生维管组织之间,主要包括筛分子、伴胞和薄壁细胞(图 10-2)。在有些情况下还有纤维、石细胞和乳管等。在维管束的外周常包围着一层鞘(bundle sheath)。这层鞘在叶片中将维管束和叶的其他组织隔离开,可能会减少水分从木质部的泄漏,有利于水的运输。此外,维管束鞘细胞在 $C_4$ 植物的光合作用中有特殊的意义。

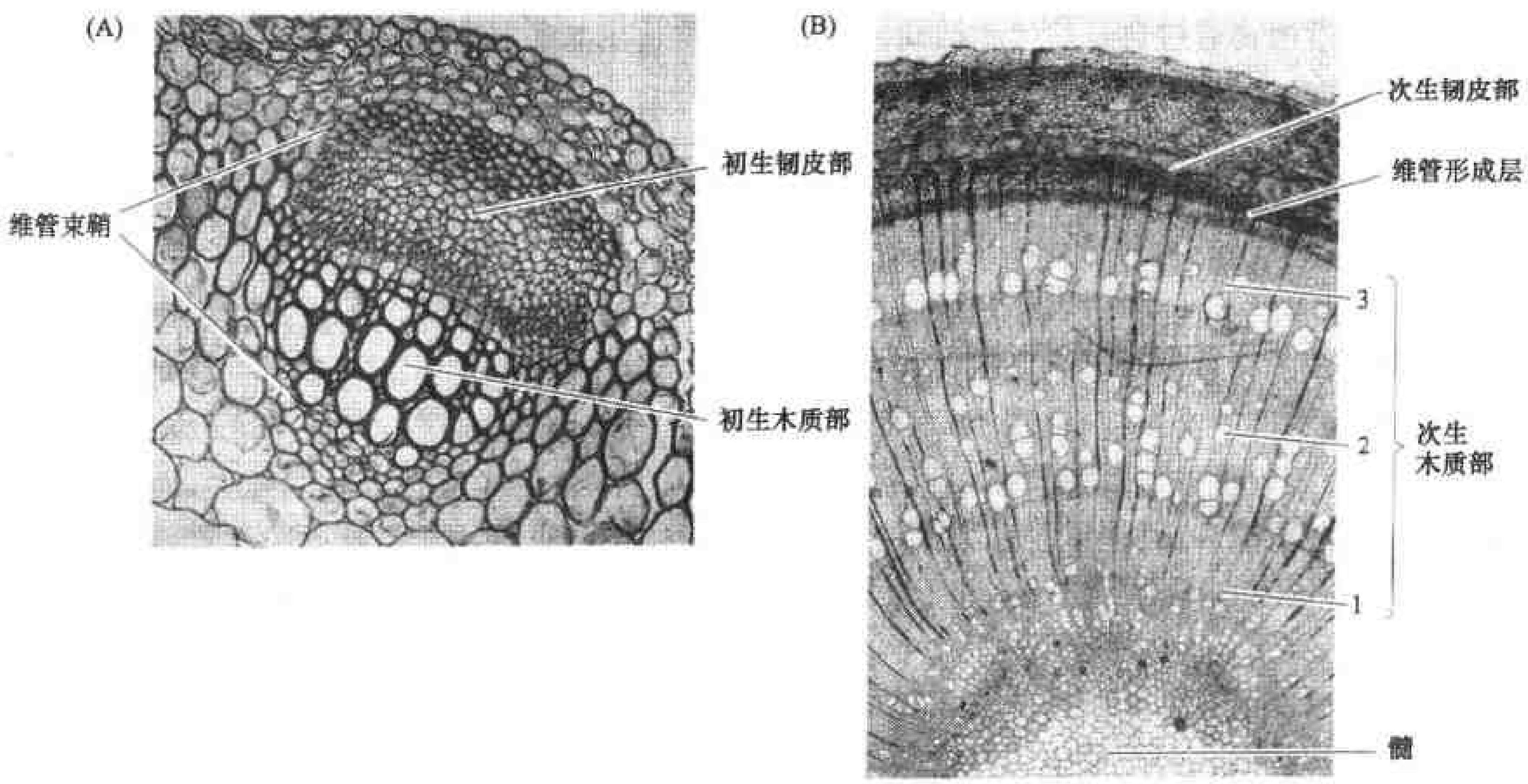



图 10-2　韧皮部的横切面结构图(Taiz & Zeiger　1998)

(A)车轴草(*Trifolium*)的初生韧皮部位于茎的外侧;(B)3 年龄椤树的茎横切图,1、2 和 3 指示次生木质部环,老的次生韧皮部已被木质部的扩张所破坏,只有新发生的次生韧皮部是具有功能的。

## (一) 筛 分 子

韧皮部中同化物运输的主要通道是筛分子(sieve element)。筛分子是一个统称,其中包括被子植物的筛管分子(sieve tube element)和裸子植物的筛胞(sieve cell)。但也有人认为筛分子即筛管分子。

**1. 筛管分子的结构**

被子植物的筛管分子是高度分化的细胞(图 10-3)。成熟的筛管分子是细长的筒状细胞,直径约 20~40μm,长度为 100~500μm。成熟筛管分子中缺少许多正常细胞具有的细胞器,例如细胞核、高尔基器、液泡、核糖体以及微管和微丝等,但是筛管分子仍然有一些线粒体和滑面内质网。筛管分子首尾相接串联在一起形成一个"管道",称为筛管(sieve tube)。筛管中筛管分子的端壁上形成多孔的特化筛域叫筛板(sieve plate)。筛板是在筛管分子分化过程中逐步形成的。在筛管分子的分化过程中,相邻筛管分子间胞间连丝扩大,胞间连丝扩大的部位会发生胼胝质的沉积并逐步突破细胞壁的中胶层形成穿孔,即筛孔。筛孔的孔径可达 0.5μm 或更宽,筛孔面积约占筛板总面积的 50%。

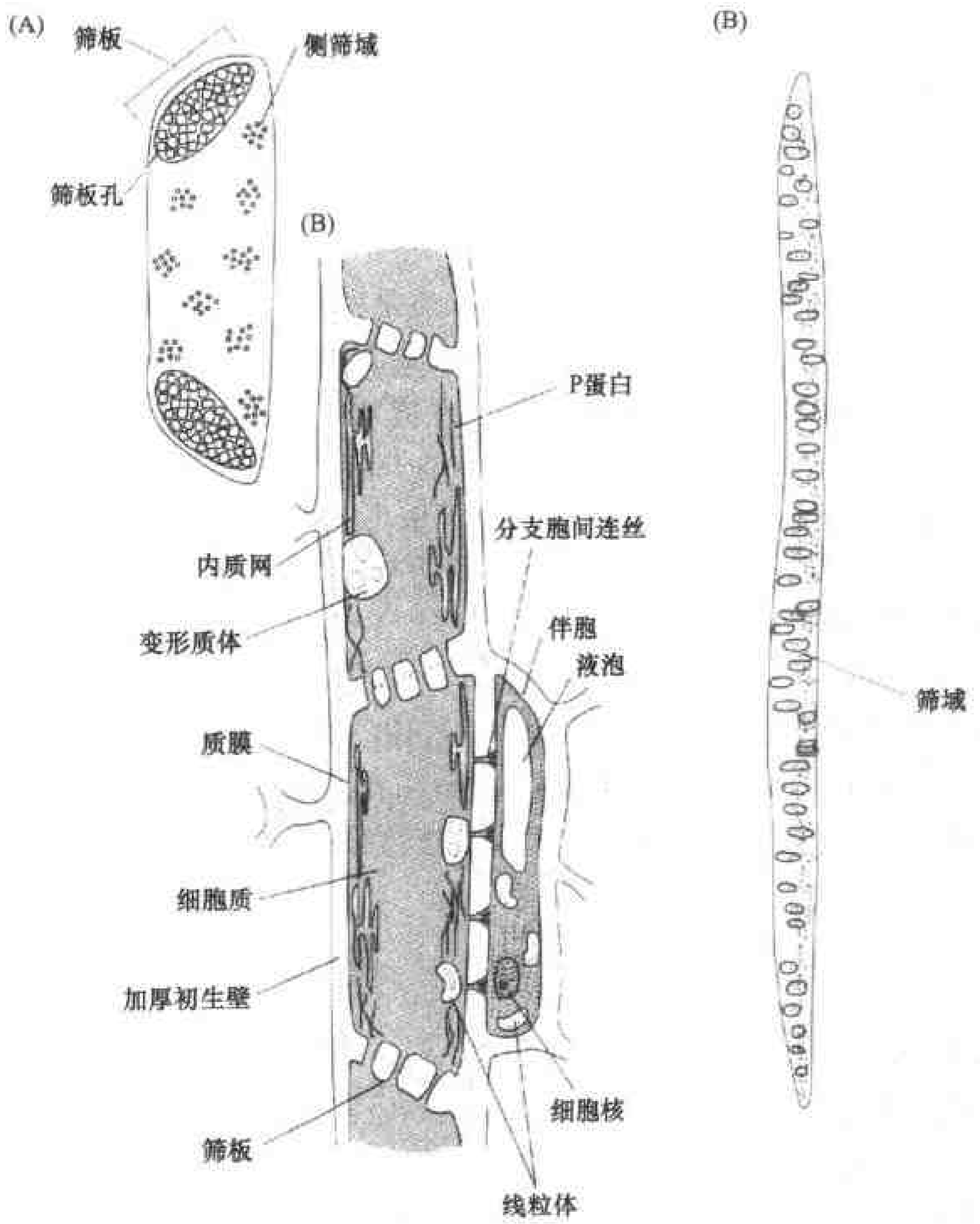



图 10-3 筛分子的结构(Taiz & Zeiger 1998)
(A)被子植物的筛管分子;(B)裸子植物的筛胞。

成熟筛管分子仍是活细胞,它仍然具有质膜,在膜上有许多载体进行着活跃的物质运输,它的细胞壁也不像导管那样木质化。筛管分子的生活力在很大程度上依赖于与它相邻的伴胞。筛管分子的这种"中空"的结构非常适合于汁液的集体流动,这对于它的运输功能是十分重要的。筛管分子的功

能可以维持数年之久，在某些棕榈树中筛管的寿命甚至可能长达百年。

**2. P蛋白**

在所有的双子叶植物以及许多单子叶植物的筛管分子中都存在一类韧皮部特有的蛋白质，称作P蛋白(phloem protein)。

(1)*P蛋白的形态和结构*　　P蛋白在筛管分子中可以有多种存在形式，例如管状、丝状、颗粒状、结晶状等等，这些存在形式往往与植物种类和筛管分子的成熟程度相关。在幼嫩的筛管分子中，P蛋白在细胞质中形成扭曲盘绕的球形或纺锤形蛋白结构，称为P蛋白体(P-protein body)。细胞成熟后，P蛋白形成管状或丝状的结构。在葫芦科(*Cucurbita*)植物中P蛋白主要有PP1和PP2两种，PP1是筛管中的丝状蛋白，PP2是筛管中的凝集素(lectin)。由于筛管分子不具备核糖体因而无法合成蛋白质，因此筛管蛋白可能都是在伴胞中进行合成并通过胞间连丝转运到筛管分子，而后在筛管中装配成P蛋白丝或P蛋白体。利用种间嫁接的方法观察到在砧木中表达的P蛋白可以运输到接穗，说明P蛋白可以在筛管中进行运输。

(2)*P蛋白的功能*　　P蛋白的功能可能是防止筛管中汁液的流失。在筛管中通常需要维持较大的压力用于筛管的集流运输。当筛管发生破裂或折断时，筛管内的压力会将筛管汁液挤出筛管因而造成营养物质的流失，如果不把受伤的筛管堵住，植物就可能会因“血流不止”而死亡，因此，筛管的及时堵漏是很重要的。在筛管发生断裂时，P蛋白会随汁液流动并在筛板处堵塞通道从而防止汁液的进一步流失。

**3. 胼胝质**

筛管中另一种重要物质是胼胝质(callose)。胼胝质是一种β-1，3-葡聚糖。胼胝质的合成酶位于质膜上，它的合成以一种“向量”的方式进行，即反应底物在细胞质一侧而反应的产物则在细胞壁一侧，合成的胼胝质沉积在质膜和细胞壁之间。前面已经提到，胼胝质的合成在筛管分子发育过程中对筛孔的形成起着很重要的作用。此外，筛管断裂时的进一步补漏需要胼胝质的参与。筛管的伤害刺激会引发胼胝质的聚合反应；其他胁迫如机械、高温等也可以引发胼胝质的聚合；植物休眠时也会发生筛管的胼胝质合成。胼胝质的形成可以有效地将筛管分子与周围组织隔离开来。当筛管分子恢复以后，胼胝质又会从孔道中消失。

**4. 筛胞**

裸子植物中的筛分子是筛胞。筛胞的特化程度不如被子植物的筛管分子。筛胞也是细长的筒形细胞，长度可达1mm，筛胞的两端成斜面，不具备筛板，筛孔区通常在两侧。筛胞中没有P蛋白存在。由于筛胞间没有直接的通道相连，因此同化物在裸子植物筛胞内的运输机制可能与被子植物筛管分子的运输机制完全不同。

## (二) 伴　　胞

**1. 伴胞的形态和结构**

每个筛管分子周围都有一个或数个伴胞(companion cell)。筛管分子和伴胞产生于同一形成层细胞的分裂。伴胞通常具有浓厚的细胞质和大量的线粒体。在筛管分子和伴胞之间有大量的胞间连丝，特别是有一些分叉的胞间连丝存在。这些胞间连丝在维持筛管分子和伴胞间的功能联系方面起着重要的作用。

由于筛管分子在分化的过程中，丢失了许多重要的细胞功能，这些功能可能由伴胞来承担。例如成熟筛管分子中没有细胞核和核糖体，不能进行蛋白质的合成，长期以来人们一直推测筛管分子中的一些蛋白质是在伴胞中进行合成的，在伴胞中合成的蛋白质然后通过伴胞和筛管分子间的胞间连丝运送到筛管分子，因此伴胞和筛管分子间的胞间连丝必然具有运输大分子的能力。目前已经有实验

证明筛管分子中的一些蛋白质是在伴胞中合成的，而且伴胞和筛管分子间的胞间连丝比其他部位细胞间的胞间连丝也具有运输更大分子质量物质的能力。此外，在伴胞中有大量的线粒体存在，线粒体中产生的大量能量可能有助于韧皮部的装载和卸出。

**2. 伴胞的类型**

在成熟叶片的小叶脉中存在不同类型的伴胞，这些伴胞在光合产物从光合细胞输送到筛管的过程中起重要的作用。在成熟叶片的小叶脉伴胞至少具有三种类型，普通伴胞（ordinary companion cell）、转移细胞（transfer cell）和中间细胞（intermediary cell）（图 10-4）。

（1）普通伴胞　普通伴胞具有叶绿体，叶绿体中有发育完好的类囊体。普通伴胞除了与筛管分子之间有大量胞间连丝之外，在其他部位很少有胞间连丝。这样，除了筛管分子之外普通伴胞与周围其他细胞之间没有共质体的通道，因此这些细胞中的物质必须通过质外体途径进入伴胞，再进一步进入筛管。

（2）转移细胞　转移细胞与普通伴胞类似，也仅与筛管分子间具有大量胞间连丝，但是转移细胞具有另一个显著的特征，即转移细胞的细胞壁向内形成许多指状内突，特别是那些不与筛管分子相邻的壁。细胞壁的这种内突使转移细胞与质外体空间的接触面积极为扩大，增加了细胞跨膜运输的能力。

转移细胞和普通伴胞的这种仅与筛管分子间富集胞间连丝的结构特征，以及转移细胞壁的内突结构特征是与它们的功能相适应的。目前认为，转移细胞和普通伴胞是专事从质外体或细胞壁间隙吸收溶质的特化细胞。在木质部的薄壁细胞也可能特化为转移细胞，这种转移细胞可能负责从木质部转移溶质，同样是从质外体吸收物质。

（3）中间细胞　第三类伴胞是中间细胞。中间细胞的叶绿体不含淀粉，类囊体常发育不完全，细胞中有大量的小液泡。中间细胞最重要的特征是与周围细胞，特别是和鞘细胞间有大量的胞间连丝相联系。因此中间细胞的功能是通过共质体途径吸收溶质。

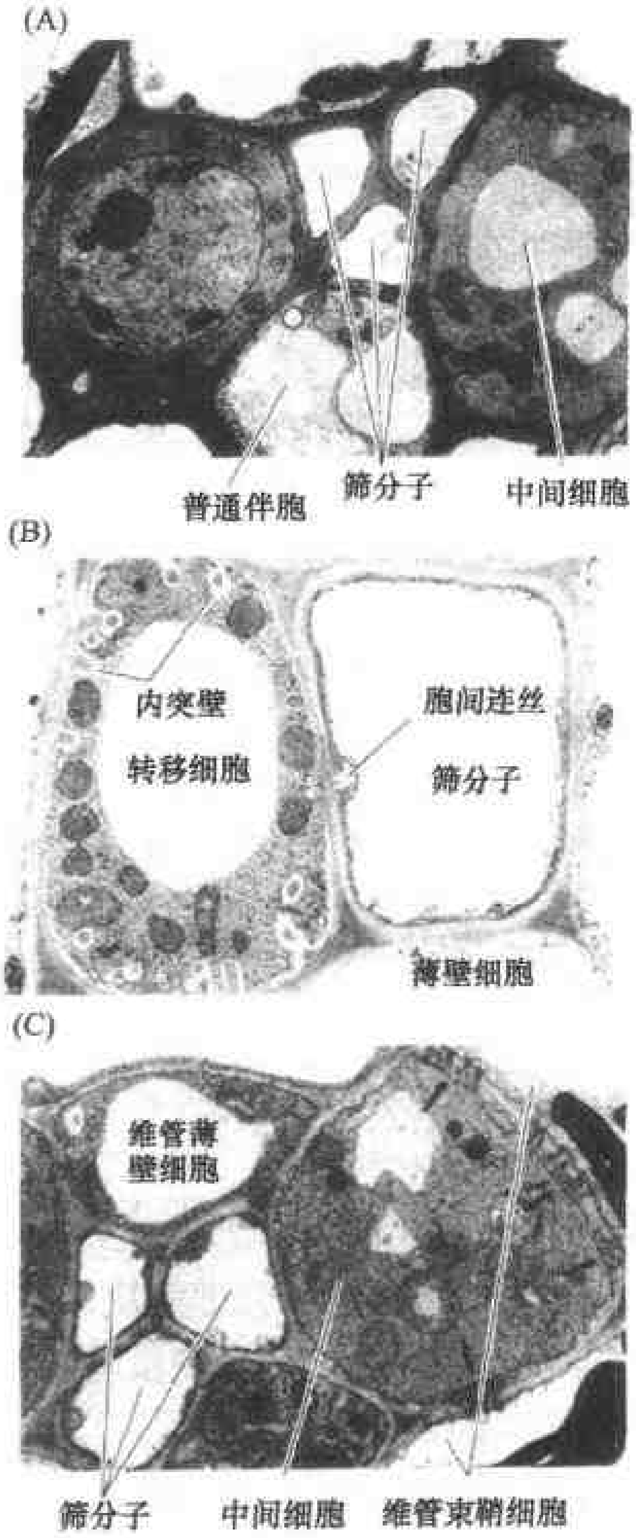



图 10-4　三种类型的伴胞

（Taiz & Zeiger　1998）

（A）普通伴胞；（B）转移细胞；（C）中间细胞。

由于筛管分子和伴胞之间在结构和功能上的密切联系，通常把两者作为一个功能单位，称为筛管分子-伴胞复合体（sieve element-companion cell complex）。筛管分子-伴胞复合体是韧皮部运输系统的“源头”，是蔗糖进入韧皮部运输系统的最初部位。筛管分子-伴胞复合体与周围细胞间胞间连丝的密度是决定光合产物装载途径的主要因素（参见本章“韧皮部的装载”部分）。

## （三）薄壁细胞

韧皮部中的薄壁细胞与其他组织中的薄壁细胞类似，细胞壁较薄，液泡很大，但是通常比普通薄壁细胞更长一些。韧皮部薄壁细胞可能有储存和运输溶质和水的功能。

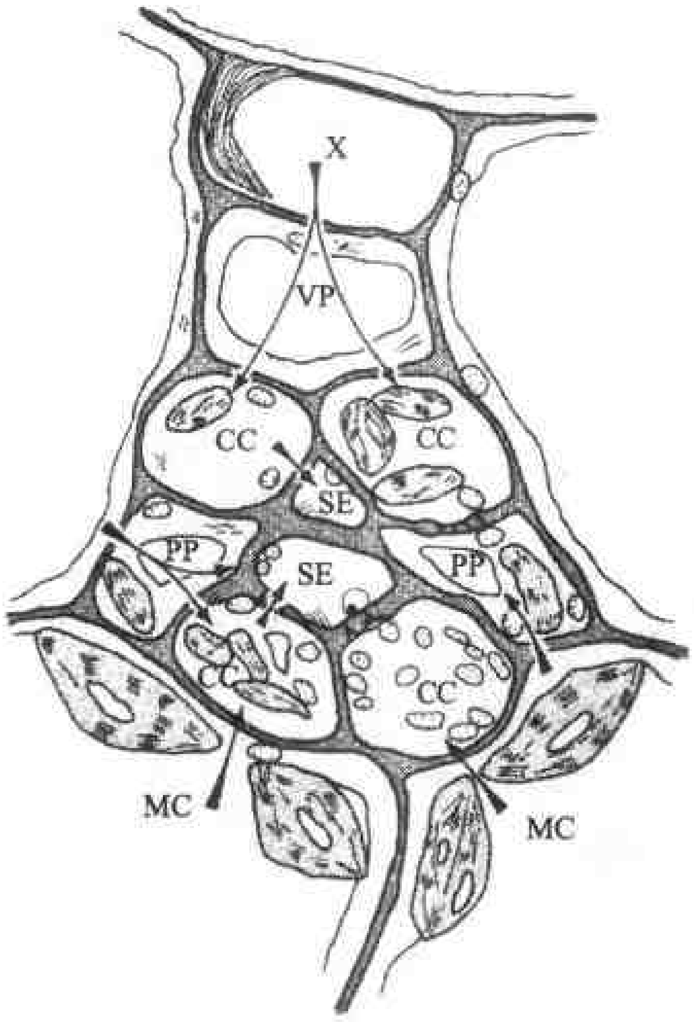



图 10-5 烟草叶片中一个小叶脉的横切示意图（Salisbury & Ross 1992）
图中 X：木质部；VP：维管束薄壁细胞；CC：伴胞；SE：筛管分子；PP：韧皮部薄壁细胞；MC：叶肉细胞。

### （四）小 叶 脉

叶片中的小叶脉（minor vein）在韧皮部的装载中具有特别重要的意义。在典型的叶片中维管束类似树叉状逐级分布，维管束的末梢即小叶脉遍布整个叶片。在叶片中所有叶肉细胞距离小叶脉一般不会超过几个细胞（图 10-5）。小叶脉中仅有一或两个筛管，叶肉细胞中光合作用生产的同化物主要在小叶脉被装载进入筛管，以后逐级汇入主叶脉向植物体全身运输。

## 三、韧皮部运输物质

### （一）韧皮部运输物质的化学性质及其形式

虽然同化物运输途径是韧皮部可以用放射性自显影技术加以证实，但是要证明同化物是以何种化合物形式进行运输却并非易事。要收集筛管汁液是很困难的事，首先，切断韧皮部收集筛管汁液的方法会由于伤口处破坏的薄壁细胞造成收集液的污染；其次，当筛管被切断后，由于筛管分子的堵漏机制，筛管中的运输会立即停止，无法收集到足够量的汁液。某些种属的植物在韧皮部被切断后筛管汁液仍然可以继续分泌，特别是用钙离子的螯合物 EDTA 处理切口可以增加分泌速率。这是因为胼胝质的合成需要钙的存在，当钙被去除后胼胝质的合成会受阻，因此筛管伤口无法封闭。再者筛管的切断会造成筛管内压力的降低因而水势降低，水会从周围进入筛管分子，这样筛管中汁液会被稀释。

蚜虫吻针技术是较为理想的收集筛管汁液的方法。蚜虫进食的方法是将其口器刺入植物的筛管，由于筛管中存在压力因而筛管汁液会被挤入蚜虫体内，蚜虫将其中的氨基酸吸收后筛管汁液被排出蚜虫体外。如果用 $CO_2$ 将蚜虫麻醉，再用激光进行切割将蚜虫身体和口器分离，由于蚜虫口器依然插在筛管中，筛管汁液会继续从口器的切口处泌出。筛管汁液的泌出可以持续数天之久，收集泌出的汁液即可作为分析之用。蚜虫吻针技术不会造成污染和筛管的封闭，因此在韧皮部运输的研究中有重要意义。

在韧皮部中进行运输的物质包括糖、氨基酸、激素和一些无机离子（表 10-1）。

筛管中运输的溶质主要是碳水化合物，其中主要是糖。在筛管中糖通常总是以非还原态进行运输，这可能是因为糖的非还原态形式的反应活性低于它的还原态形式。对于大多数植物来说，筛管中最主要的还原糖是蔗糖，筛管中蔗糖浓度可以达到 0.3～0.9mol/L，可以占干物质的 90%。除了蔗糖之外，蔗糖还可以与半乳糖（galactose）分子结合形成其他化合物进行运输，如棉子糖（raffinose）是蔗糖结合一分子半乳糖形成的化合物，水苏糖（stachyose）是蔗糖结合两分子半乳糖的化合物，毛蕊花糖（verbascose）则由蔗糖和三分子半乳糖组成。在筛管中运输的还有甘露醇（mannitol）和山梨醇（sorbitol）等糖醇。

**表 10-1 韧皮部中运输的物质**
（Taiz & Zeiger 1998）

| 成分 | 浓度/(mg /ml) |
|---|---|
| 糖 | 80.0～106.0 |
| 氨基酸 | 5.2 |
| 有机酸 | 2.0～3.2 |
| 蛋白质 | 1.45～2.20 |
| 氯化物 | 0.355～0.675 |
| 磷酸盐 | 0.350～0.550 |
| 钾 | 2.3～4.4 |
| 镁 | 0.109～0.122 |

在韧皮部进行运输的还有其他有机物。氮化合物主要是氨基酸及其酰胺形式，特别是谷氨酸、天冬氨酸以及它们的酰胺(谷氨酰胺和天冬酰胺)。差不多所有植物激素，如生长素、赤霉素、细胞分裂素和脱落酸都可以在韧皮部进行运输。虽然生长素可以在木质部进行极性运输，但是长距离的激素运输至少部分在筛管中进行。筛管汁液中还有磷酸核苷酸、蛋白质和 RNA 等。筛管中还有一些与基本的细胞功能相关的蛋白质，例如进行蛋白质磷酸化的蛋白激酶、参与二硫化合物还原的硫氧还原蛋白、降解蛋白质的泛素、指导蛋白折叠的分子伴侣等。

在筛管中存在的无机物有钾、镁、磷和氯，硝酸、钙、硫和铁则几乎完全不存在。

## (二) 韧皮部运输的方向和速率

**1. 韧皮部运输的方向**

韧皮部中运输方向的基本规律是从源向库进行。

(1)源库的概念　源(source)是指生产同化物以及向其他器官提供营养的器官，例如绿色植物的成熟叶片、种子萌发时的子叶或胚乳组织；而库(sink)是指消耗或积累同化物的接纳器官，例如幼叶、根、花、果实、种子等。"源"和"库"是相对的概念。在植物的任何生长发育阶段都有一定的器官作为供应同化物的源而又有另一些器官作为接纳同化物的库。但是在不同的发育阶段，作为源和库的器官则可能是不同的。例如在种子萌发的阶段，种子的胚乳或子叶是供应同化物的源而胚芽和胚根则是消耗同化物的库；在植物的营养生长阶段，植物的成熟叶是生产供应同化物的源而植物的根、分生组织等则是接纳同化物的库。对于植物的特定器官在发育的过程中其源或库的地位也会发生改变，例如正在伸展过程中的幼叶，其光合作用所生产的同化物尚不能满足其生长的需求而需要输入同化物因此是代谢的库；当叶片伸展到其最终大小的一半之后其输入的同化物逐渐减少，直至最后成为完全伸展的成熟叶其同化物的输入完全停止成为输出同化物的源。因此植物的源和库可以在发育过程中发生相互转化。

(2)源库单位　虽然同化物运输的基本方向是由源到库，但是在植物体内通常有多个源器官和库器官，同化物在源库器官间的运输存在时间和空间上的调节和分工。源和库之间常构成所谓源库单位。源库单位是指一个源器官和直接接纳其输出同化物的库器官所组成的供求单位，例如一个叶片所输出的同化物通常只供应某些特定的器官和组织，它们在营养供求关系上是相互依赖的。源库单位不仅在空间上有一定分布，在一定的发育阶段也有变化，例如成熟叶片在植株营养生长阶段主要向根和茎的分生组织供应营养，而当进入生殖阶段后则主要向其生殖器官供应营养。

(3)源库运输的规律　在植物体中，源库的组织有一定的规律。

1)就近运输　就近性(proximity)原则是源库运输的重要影响因素。植物的上部叶片通常主要向茎端生长点以及幼叶运送同化物，下部叶片主要提供根系所需的同化物，中部叶片则既向上也向下进行运输。

2)向生长中心运输　植物在不同的生长阶段有不同的生长中心，植物的同化物通常是主要向生长中心运输，或者说生长中心是主要的库。在营养生长期，根端和茎端的生长点是主要的库，成熟叶片是主要的源，因此同化物的运输方向是从成熟叶片到根端和茎端的生长点。当植物体由营养生长转变为生殖生长后，果实逐步成为主要的库，而同化物运输的方向也从向根端和茎端运输转变为主要向果实运输。

3)优先在有维管束相连接的源库间运输　维管束走向和结构对同化物运输的方向有重要影响，叶片通常优先向与其有直接维管束相连接的库运输同化物。在许多植物中，叶子沿其茎按螺旋线有规律地排列，每隔一定的叶片数即有一叶片位于沿茎的特定垂直线上，称为直列线(orthostichy)。在直列线上的叶子的维管束通常与茎中同一维管束直接相通，成熟叶也通常向在同一直列线上的幼

叶输送同化物(图 10-6)。

4)维管束的并接(anastomosis)　当植物维管束因植物体受到伤害或修剪被切断时,韧皮部运输也会发生改变。如果源库间直接的维管束被切断,维管束间就会发生并接使源库间的运输可以继续进行(图 10-6)。

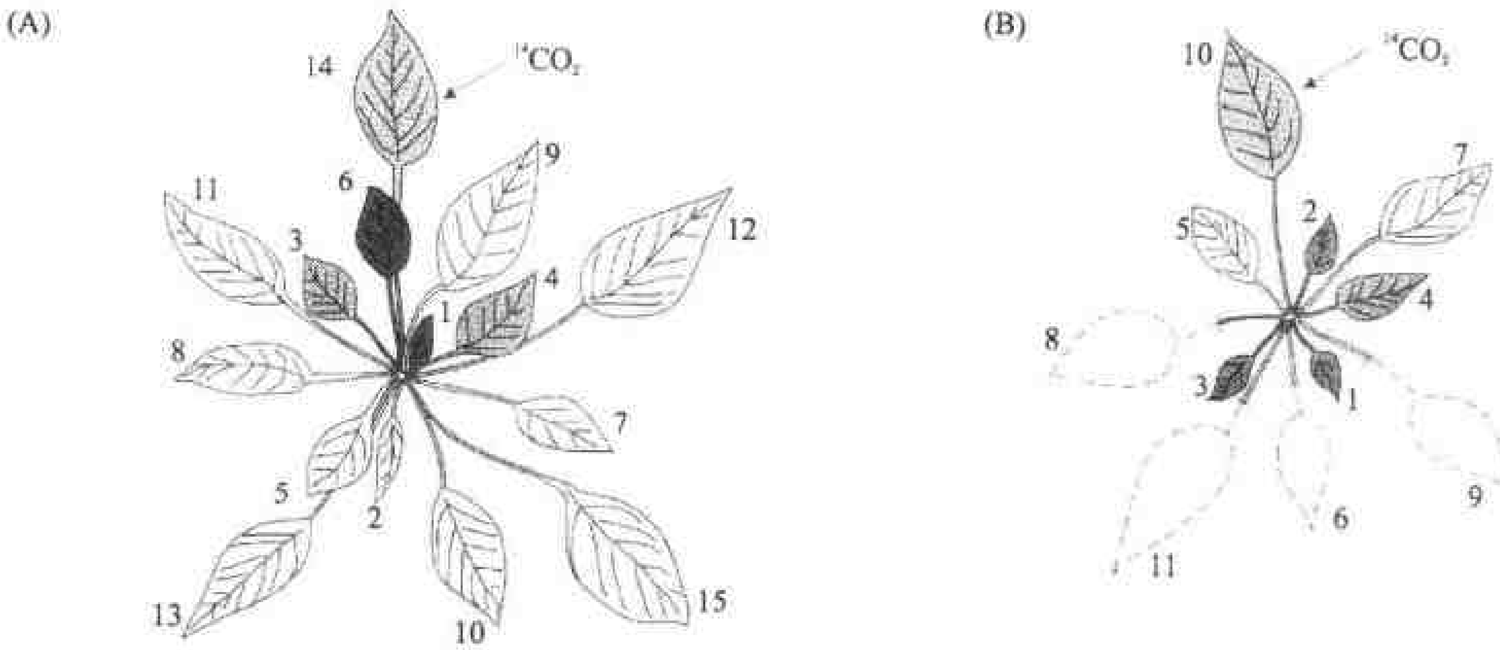



图 10-6　放射性标记从源叶向整株植物分配(Taiz & Zeiger　1998)

图中放射性的强度用叶片颜色的深浅来表示。(A)用$^{14}CO_2$饲喂单片甜菜源叶(箭头所指叶片)4 小时,一星期后整株植物的叶片中放射性强度的示意图。叶片按照叶龄顺序用数字表示,叶龄最小的刚萌发的叶片定为叶 1。放射性标记的$^{14}C$主要向源叶上方,与之在同一直列线上的库叶中分配;(B)如果在$^{14}CO_2$饲喂后 24 小时摘去在饲喂叶片另一侧的所有源叶,则$^{14}C$向两侧的库叶都进行分配。

**2. 韧皮部运输的运输量**

(1)运输量的表示方法　物质在韧皮部的运输量是很大的。通常可以用两种方法表示韧皮部的运输量:运输速率(velocity)和质量运输速率(mass transfer rate)。

运输的速率是单位时间内物质运动的距离,用 m/h 或 mm/s 表示。在不同植物中测到的运输速率有很大差异,大约范围在 0.3～1.5 m/h 之间,平均约 1 m/h。但是由于参与运输的韧皮部或筛管的截面积在不同物种和不同植株间变化很大,运输速率并不能真正反映运输的数量,因此用质量运输速率来表示。质量运输速率是指单位截面积韧皮部或筛管在单位时间内运输物质的质量,常用 $g/(m^2 \cdot h)$或 $g/(mm^2 \cdot s)$表示。

(2)运输速率的估算和测定　早期比较粗略的测定运输速率的方法是根据某个库器官在一定时间内的增重来估算运输速率。进一步测定韧皮部的截面积,即可经计算得到其质量运输速率。如果要估算筛管中溶液的运输速度,则可根据物质的密度和溶液中该物质的浓度来进行估算。即

筛管中溶液的运输速度=质量运输速率÷物质的密度÷物质的浓度。

运输速率可以用放射性同位素的方法进行测定。但是由于$^{14}C$的放射性半衰期较长不适合用于运输速率的测定,因此用放射性半衰期较短的$^{11}C$放射性同位素进行测定。

## 第二节　韧皮部运输的机制

韧皮部运输的机制在 20 世纪 30 年代到 70 年代曾经是倍受关注的研究课题。

扩散对于在韧皮部运输中溶质的运动速度而言,速度是太慢了。筛管中溶质运动的平均速度可达 1m/h,而扩散 1m 距离所需的时间要 32 年,因此扩散不可能是韧皮部运输的主要方式。

有两类有关韧皮部运输机制的假说。首先是主动运输机制,认为在源端的装载和库端的卸出,以

及溶质在筛管中的运输过程都是需要能量的。另一类学说是被动运输机制，认为虽然源端装载和库端卸出需要能量，但是筛管运输本身是不需要能量的，这个过程所消耗的能量是用于维持运输细胞功能的完整性，或者将渗漏的糖重新运回细胞。

## 一、压力流动学说

压力流动学说是目前被广泛接受的有关韧皮部运输机理的假说。

### （一）压力流动学说

压力流动学说是 Ernst Münch 在 1930 年首先提出的，该学说认为筛管的液流是靠源端和库端渗透势所引起的膨压差所建立的压力梯度来推动的(图 10-7)。

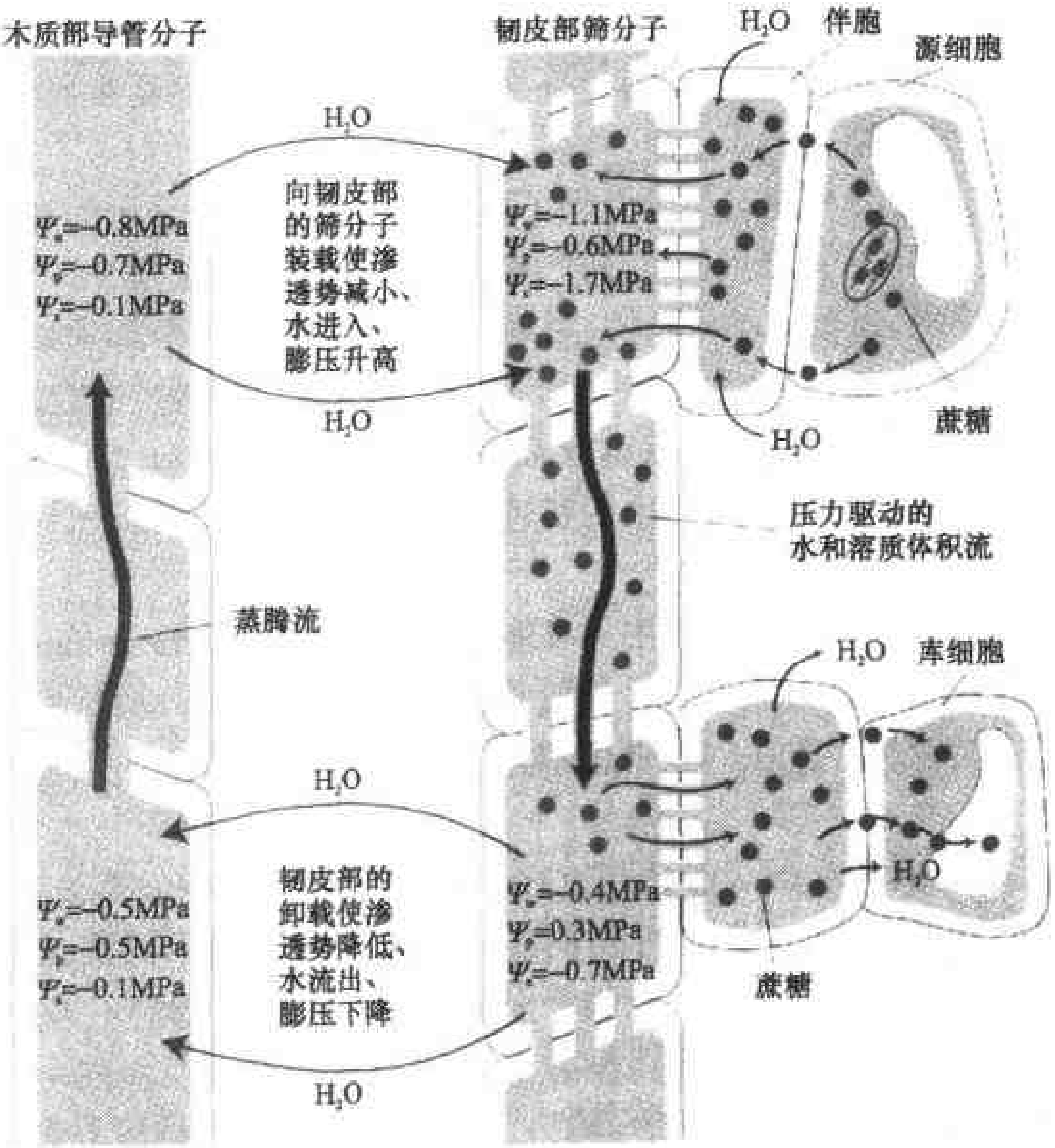



图 10-7　压力流动学说示意图(Taiz & Zeiger　1998)

源库间压力差的建立过程是这样的：在源端韧皮部进行溶质的装载，溶质进入筛管分子后细胞渗透势下降同时水势也下降，于是木质部的水沿水势梯度进入筛管分子，筛管分子的膨压上升；另一方面，在运输系统的库端，由于韧皮部的卸出，库内筛管分子的溶质减少，细胞渗透势提高，同时细胞水势也提高，这时韧皮部的水势高于木质部，因此水沿水势梯度从筛管分子回到木质部，引起筛管分子膨压的降低。这样就在源端和库端形成膨压差。由于源-库端的膨压差，筛管中的汁液沿压力梯度从源向库运动。筛管中汁液的运动本身并不需要能量，但是在源库端进行的装载和卸出则是消耗能量的。能量主要用于建立和维持源库两端的压力差。

在韧皮部的运输系统中，筛板极大地增加了筛管对水流的阻力。但是这种阻力对于建立和维持源-库两端的膨压差却是十分必要的。因为如果没有筛板的阻力，筛管两端的膨压会很快达到平衡，因而无法建立起源-库两端的膨压差，也就不能形成筛管汁液的集流。

值得注意的是，韧皮部集流的运动是逆水势梯度进行的。由于水在筛管中的运动是集流而非渗透（筛管分子间无细胞膜），因此渗透势在此不是水运动的动力，而压力差才是水运动的动力。同化物是随水的集流而被带动在筛管中进行运输的。

## （二）压力流动学说的依据

植物韧皮部的运输机制如果符合压力流动学说，就必须具备以下条件。

**1. 筛管间的筛孔必须是开放的**

如果筛孔发生堵塞（如 P 蛋白或其他物质），会对集流产生很大的阻力，以致集流无法产生，因此如果筛管中汁液是以集流形式运动则筛孔必须是开放的。

但是早期的电镜观察结果是不支持压力流动学说的。在这些观察中常发现筛管分子的孔道是被堵塞的。其原因可能就是由于无法在筛管分子的保护反应发生之前将细胞的结构固定下来。因为筛管分子具有防止泄漏的保护机制，当切割或固定植物材料筛管导致发生断裂或渗漏时，筛管分子间的筛孔会迅速被 P 蛋白和胼胝质堵塞。

近年来发展起来的快速冷冻和固定技术提供了更为可靠的对筛管分子的观察手段。利用这些技术得到的电镜结果表明筛管分子中 P 蛋白常位于筛管分子的外周或者分布在整个管腔，位于筛孔的 P 蛋白沿孔道或以疏松的网状分布。在葫芦科、甜菜、豆类等许多植物中都观察到这样的筛孔开放状态。这些观察结果是符合压力流动学说的。对于活体植株中韧皮部运输的直接观察是说明筛管分子间是否开放的最有力的证据。最近利用共聚焦显微镜技术对蚕豆（*Vicia faba*）中筛管分子在活体状态下荧光分子的运输过程进行了观察，结果表明筛管孔道在活体中是开放的。

**2. 在同一筛管中没有双向运输的发生**

根据压力流动学说，在同一个筛管分子中不可能发生双向运输（bidirectional transport）。因为溶质在筛管中是随集流而运动的，而集流在一个筛管中只能有一个方向。虽然早期有实验说明物质可以在韧皮部进行双向运输，但是溶质在韧皮部的双向运输可能是在不同的维管束或不同的筛管分子中进行的。

对于筛管分子中运输方向的观察一般是通过在筛管中装入示踪物如荧光染料，然后根据示踪物的运动方向来确定筛管集流的方向。常常可以观察到示踪物在茎的不同维管束中沿不同方向的运动；在叶柄的同一维管束中也可以观察到邻近的不同筛管分子中示踪物沿不同方向的运动，特别是当叶片处于库-源转变过程的时候。但是目前还没有确切的观察证据表明在同一个筛管分子中存在双向的物质运输。因此目前对筛管分子中物质运输方向的观察结果是支持压力流动学说的。

**3. 筛管运输本身并不需要能量**

虽然能量对于维持筛管分子的结构和膜的完整性以及将渗漏的糖重新装回筛管需要一定的能量，但是在筛管中的运输本身并不需要能量，因此限制 ATP 的供应，例如低温、缺氧、代谢抑制剂等不会中止运输。

一些可以耐受短期低温的植物比如甜菜，使其叶柄的一段处于 1℃的低温，这时组织的呼吸被抑制了 90%，而韧皮部的运输在受到暂短的抑制后可以逐步恢复到正常水平。把南瓜（*Cucurbita pepo*）叶柄置于 100%的氮气和黑暗条件下，运输部位的有氧呼吸被完全抑制但是运输过程依然进行。因此，韧皮部运输本身并不是一个耗能的过程。对于一些非耐寒的植物如豆类，低温处理叶柄或用呼吸抑制剂处理会抑制韧皮部运输，但电镜观察结果表明这些处理会造成筛管分子间筛孔的堵塞，因此造成运输抑制的原因可能是筛孔的堵塞而非不能满足运输的能量需求。

**4. 在源端和库端存在膨压差**

压力流动学说要求正的压力梯度，在源端的筛管分子的膨压应该大于库端筛管分子的膨压，而且

压力差应足以克服筛管的阻力并使汁液流速达到已观察到的水平。

对源端和库端筛管分子的膨压可以进行直接测定，测定的基本方法是通过将针刺入筛管分子并把和针相连的压力感受装置与细胞内部连通从而直接测定出细胞的膨压。早期比较粗糙的测定装置是由注射针和简单的气压计组成，当然这样的装置是很难得到准确数据的。以后又采用蚜虫吻针的方法，让蚜虫将吻针刺入筛管分子，然后将吻针与虫体分离后再与微压力计或压力传感器连接，测定筛管分子的膨压。因为蚜虫的吻针只刺入单个筛管分子并且不会造成泄漏，所以这一方法可以得到准确可靠数据，但是它的技术难度比较大。根据目前所得到的源库端膨压的测定值，我们可以发现源端总是具有比库端更高的膨压值。

源端和库端筛管分子的膨压值也可以通过从渗透势和水势计算得到。根据这样的计算，源库端膨压的压力差值大约是 0.41MPa，而根据筛管集流的速率、筛管的阻力和长度等计算得到的源库两端所需的膨压差值是 0.12～0.46MPa。因此源库端存在的膨压差是足以推动筛管集流的运行的。

## 二、其他韧皮部运输机制

在较早期的对韧皮部运输机制的研究中还曾提出过若干其他的假说。

**1. 胞间连络束和胞质泵动**

在对筛管的活体观察中曾发现在筛管中存在一些束状的结构贯穿筛孔，并且有胞质颗粒沿这些束状结构运动。根据这样的观察结果提出：在筛管中有束状的胞间连络束经筛孔穿越一序列的筛管分子，筛管中可以有多个这样的连络束，一些束可以向一个方向移动而另一些束则向相反的方向移动，束间的溶液是蔗糖的储藏库，束移动的能量来自筛管中的蔗糖浓度梯度。蔗糖在源端不断加入而在库端不断卸出，因此形成蔗糖的浓度梯度，这个浓度梯度越陡运输的速率就越快。

**2. P 蛋白收缩推动**

这个假说认为筛管中存在的大量 P 蛋白可以在筛管中形成可以收缩的管状纤丝并组成索状的网络结构，P 蛋白纤丝是中空的管状丝并可成束穿过筛孔，在其中可以发生微蠕动现象推动溶液的主动运输。

这些假说推测的成分较多，缺少实验的证据。目前被普遍接受的韧皮部运输机制仍然是压力流动学说。

虽然目前被子植物的大部分实验结果支持压力流动学说，但是在裸子植物中却有所不同。裸子植物的筛胞间并不具有开放的筛孔，电镜观察结果表明在筛胞的筛孔中有大量的膜并与细胞的滑面内质网相连，因此裸子植物筛胞的结构显然不符合压力流动学说的要求。也许在不同植物中韧皮部运输具有不同的机制。

# 第三节　碳水化合物的装载和卸出

碳水化合物在源端的装载和库端的卸出是韧皮部运输动力的来源，同时碳水化合物的运输及其分配对农业生产有重要的意义，源端装载对叶的光合作用和库端卸出对果实和籽粒的产量等等都有极为重要的影响。

## 一、韧皮部的装载

### （一）韧皮部装载的过程

**1. 韧皮部装载的步骤**

韧皮部装载（phloem loading）包括光合产物从成熟叶片中叶肉细胞的叶绿体运送到筛管分子-伴

胞复合体的整个过程,其中包括三个步骤:第一个步骤是光合作用产物从叶绿体外运到细胞质。在白天,光合作用生产的磷酸丙糖从叶绿体外运到细胞质,然后转化为蔗糖;在夜里,叶绿体中的淀粉水解为葡萄糖,之后被运送到细胞质并转化为蔗糖;第二个步骤是蔗糖从叶肉细胞运输到叶片小叶脉的筛管分子-伴胞复合体附近。这个过程往往只涉及几个细胞的距离,因此也称为短距离运输(short-distance transport);第三个步骤是筛管分子装载(sieve element loading),即蔗糖进入筛管分子-伴胞复合体的过程。

蔗糖和其他溶质进入筛管后,就会随集流被运出源器官,称之为输出(export)。而通过维管系统从源向库的运输则称为长距离运输(long-distance transport)。

**2. 韧皮部装载的途径**

光合产物的韧皮部装载可以通过质外体途径(apoplastic pathway)也可以通过共质体途径(symplastic pathway)(图 10-8)。不同植物可能采用不同的途径。由于韧皮部装载是指从叶肉细胞到筛管分子-伴胞复合体的全过程,涉及许多细胞,对于共质体途径来说,首要条件是参与此途径的细胞间都具有大量的胞间连丝;而质外体途径并不意味着全过程都是在质外体中进行,只要在此途径中任何步骤必须经过质外体,那么这个途径就是质外体途径的韧皮部装载,因此存在这样的可能性即某个韧皮部装载是质外体途径的,而筛管分子装载却是通过共质体的。

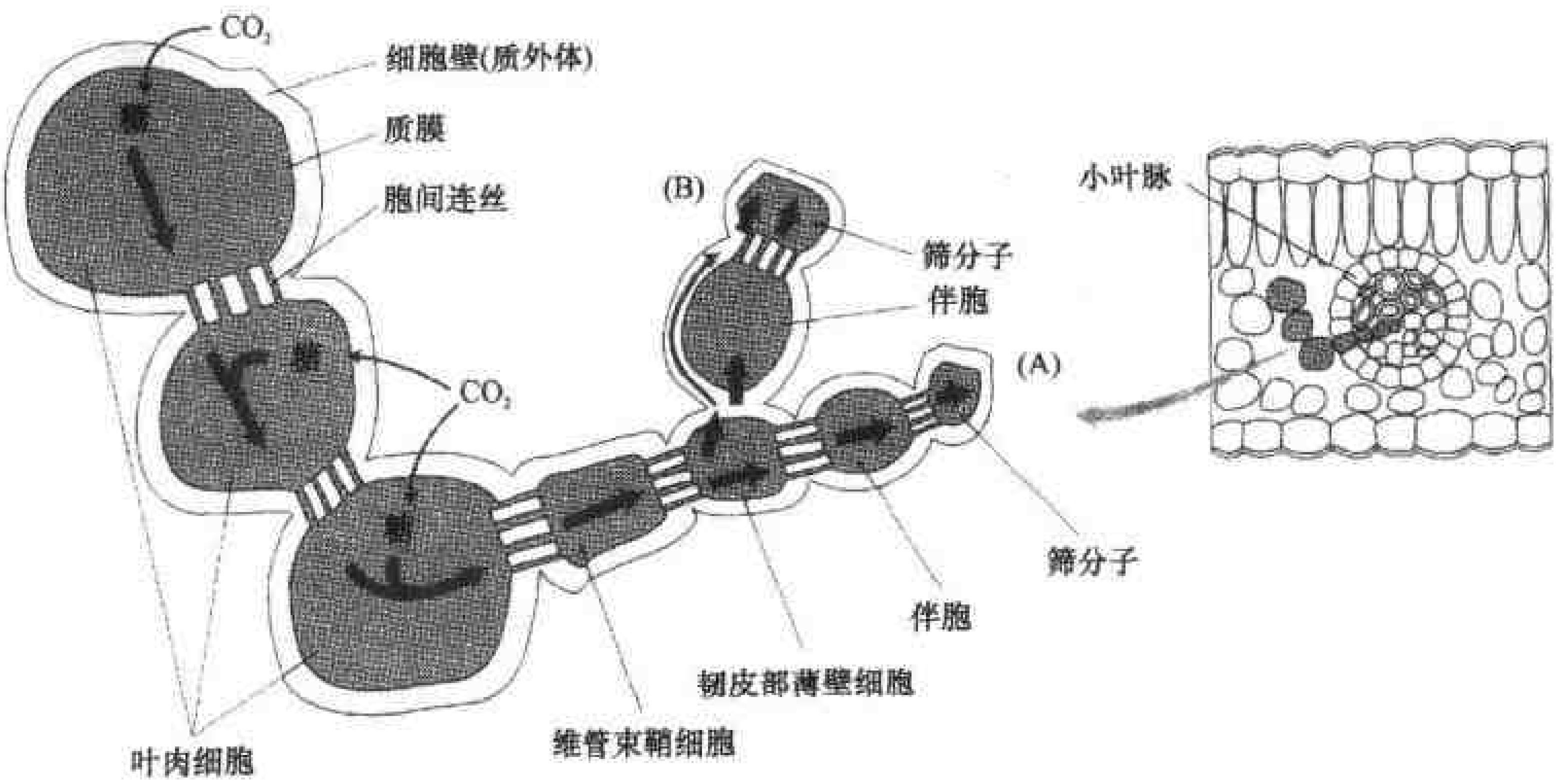



图 10-8 韧皮部装载途径示意图(Taiz & Zeiger 1998)

韧皮部的装载可以通过共质体途径(A)也可以通过质外体途径(B)。

## (二)植物韧皮部装载的类型

韧皮部装载类型是和小叶脉伴胞类型、筛管分子-伴胞复合体与周围细胞间胞间连丝的密度以及糖的运输形式等因素相关的。

韧皮部装载的途径首先取决于伴胞类型和筛管分子-伴胞复合体与周围细胞胞间连丝的密度。在本章有关伴胞的内容中我们已经介绍了伴胞的三种类型,即普通伴胞、转移细胞和中间细胞。普通伴胞和转移细胞除了与筛管分子间有大量胞间连丝外,与周围的其他细胞缺少胞间连丝的连结,因此光合产物进入筛管必须经过质外体的途径。而中间细胞与周围细胞间有大量的胞间连丝存在,因此光合产物可以经过共质体的途径进入筛管。

筛管分子-伴胞复合体与周围细胞胞间连丝的密度在不同植物种属中有相当大的差异。一般可以根据其密度的大小分为类型 1、类型 2a 和类型 2b,即有大量胞间连丝存在,有中等密度的胞间连丝

存在和几乎无胞间连丝存在三种类型。不同类型间胞间连丝的密度差异约有 10 倍，从类型 1 到类型 2b 的差异可达 1000 倍。

除了结构特征外，韧皮部装载的途径还与所运输糖的形式有关。以蔗糖为同化物运输形式的植物种属大多数都利用质外体韧皮部装载途径，这些植物在小叶脉中的伴胞类型通常为普通伴胞或转移细胞，在筛管分子-伴胞复合体与周围细胞间很少有胞间连丝，为类型 2b。例如甜菜，许多豆科植物等。而具有共质体韧皮部装载途径的植物种属除蔗糖外还运输棉子糖、水苏糖等多聚糖，这类植物的小叶脉通常具有中间细胞类型的伴胞，在筛管分子-伴胞复合体与周围细胞之间有大量的胞间连丝，为类型 1，例如锦紫苏（*Coleus blumei*）、西葫芦（*Cucurbita pepo*）和甜瓜（*Cucurnis melo*）等。

当然，这样的区分特性并非是一成不变的，另外还存在许多中间的类型。许多植物小叶脉的筛管分子-伴胞复合体与周围细胞间有大量胞间连丝，但是所运输的糖却不是棉子糖或水苏糖，它们的伴胞类型也不是中间细胞。在同一植物中可以有混合的装载途径，例如寡糖通过共质体装载而蔗糖通过质外体装载，不同的糖通过不同途径平行地进入不同的筛管分子-伴胞复合体。不同的韧皮部装载途径还可以发生在不同等级的叶脉中，质外体途径的韧皮部装载发生在较高等级的叶脉中，共质体途径的韧皮部装载发生在较低等级的叶脉。因此，韧皮部的装载可能还有其他的类型和装载机制有待我们去揭示。

韧皮部和周围细胞的联系程度具有很强的种属特性。例如在双子叶植物的科中大约只有 10%的科，其中的植物具有两种以上的韧皮部和周围细胞的联系类型；而大多数的科，其中的植物都采用同一的联系类型。在韧皮部和周围细胞间有大量胞间连丝的植物通常是树木、灌木或藤本植物；而草本植物是比较典型的韧皮部和周围细胞之间缺少胞间连丝的植物。从全球的植物分布来看，在韧皮部和周围细胞间有大量胞间连丝的植物往往分布在热带和亚热带地区；而在韧皮部和周围细胞间不具胞间连丝的植物则常生活在寒冷和干燥的气候条件。因此有人认为，低温和水分亏缺会引起共质体运输受阻，质外体装载是植物对这种不利环境条件的适应性反应。

## （三）通过质外体途径的韧皮部装载

**1. 韧皮部的装载存在质外体途径**

有许多实验的证据说明在韧皮部的装载中存在经过质外体的途径。

(1)质外体中存在被运输的糖　　如果韧皮部需要经过质外体，那么在质外体中就应该检测到被运输的糖。实验表明在甜菜、大豆等以蔗糖为主要运输形式的植物中质外体中的糖以蔗糖为主，如果改变蔗糖的向外输出也相应地改变蔗糖在质外体的水平或者流速；利用$^{14}C$ 同位素方法证明，当用 $^{14}CO_2$ 饲喂甜菜叶片后，放射性很快出现在质外体中，因此质外体中的蔗糖来自光合细胞。

(2)质外体的糖可以进入筛管分子　　在甜菜、蚕豆、豌豆、蓖麻叶秋海棠（*Ricinus communis*）等多种植物中都观测到：当对作为库的叶片施加外源糖时，糖会汇聚到小叶脉中的筛管分子-伴胞复合体中。因此质外体中的糖是可以被吸收进入筛管的。

(3)跨膜运输的抑制作用　　对氯高汞苯磺酸（p-chloromercuribenzenesulfonic acid，PCMBS）是抑制蔗糖跨膜运输的抑制剂，但是它自身不能跨膜进入共质体。如果用 PCMBS 抑制某些植物，例如甜菜、蚕豆、豌豆等对质外体糖的吸收，同样也会抑制叶片的糖的输出。因此在这些植物中，蔗糖从光合细胞到筛管分子-伴胞复合体的短距离运输可能涉及了蔗糖从质外体进入共质体的过程。

通过转基因技术使番茄质外体中产生蔗糖的裂解酶——蔗糖酶，结果植株的生长很慢，夜间淀粉的转化受阻，表明蔗糖在质外体的水解会抑制蔗糖的运输，因此这些植物的蔗糖运输有质外体途径的参与。

**2. 质外体途径的蔗糖吸收是需能的过程**

在输出蔗糖的叶片中蔗糖在筛管-伴胞复合体的浓度要高于叶肉细胞中蔗糖的浓度。在甜菜中，叶肉细胞的渗透势大约是－1.3MPa，而筛管分子-伴胞复合体的渗透势大约是－3.0MPa。这种渗透势的差别主要是由于蔗糖浓度的差别造成的。但是蔗糖运输方向是从叶肉到筛管-伴胞复合体，同时蔗糖又是不带电荷的分子，因此蔗糖的短距离运输是一个逆化学势梯度的富集、浓缩过程。从理论上讲这个过程是一个消耗能量的过程。估计作为能源（提供 ATP）所消耗的蔗糖可能占其运输总量的 1.4%。外加 ATP 可以促进蔗糖的输出量，提高蔗糖在质外体的转换率。如果用呼吸抑制剂，如二硝基苯酚（DNP）抑制植物呼吸，降低 ATP 水平，外源蔗糖的装载就会受阻。

**3. 质子-蔗糖共运输**

蔗糖的跨膜运输是需能的主动运输过程。主动运输通常利用代谢产生的 ATP，可以有初级主动运输和次级主动运输两种方式。主动运输中膜蛋白通过使用水解 ATP 产生的能量直接将溶质逆电化学势梯度跨膜运输。在植物中，初级主动运输的 ATP 酶是质子泵。对于次级主动运输，溶质的逆电化学势的跨膜运动并非直接利用 ATP 水解的能量，而是利用初级主动运输的 ATP 酶或质子泵所建立的质子梯度进行运输。

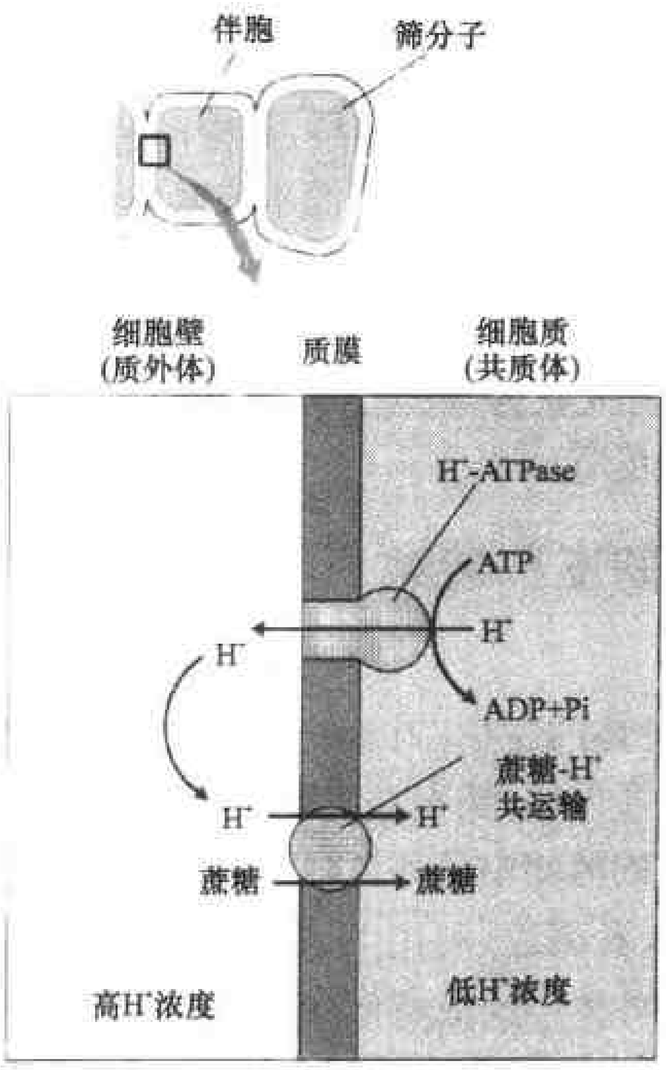



图 10-9 蔗糖-质子同向运输示意图（Taiz & Zeiger 1998）

质子泵将质子泵出细胞，在质外体中形成较高的质子浓度，建立起细胞内外的质子梯度。质外体中的质子趋向于向细胞内扩散，在细胞膜上的特殊载体可以利用质子的顺电化学梯度的扩散将细胞外的溶质蔗糖与质子共同转运至细胞内，这种运输方式称为蔗糖-质子同向共运输（sucrose-proton symport）或共运输（cotransport）（图 10-9）。负责这样运输的载体称为蔗糖-质子共运输载体（sucrose-proton symporter）。从质外体向筛管分子-伴胞复合体的装载就是通过这样的运输方式进行的。例如，在蚕豆中如果提高质外体中的 pH 会减少外施蔗糖向筛管分子和伴胞的运输。这结果是和蔗糖-质子同向运输的假说相符的。因为质外体 pH 的提高意味着质外体中质子浓度的降低，这样就会降低跨膜的质子电化学梯度，因而减小推动蔗糖-质子共运输的能量。

分子生物学的研究结果进一步确定了这一假说。用免疫学方法确定了质子泵存在于伴胞和转移细胞的质膜上。在转移细胞中，质子泵主要集中于细胞内褶的质膜面上，这些部位主要而向维管束鞘和维管薄壁细胞，正是蔗糖从质外体向筛管分子伴胞-复合体运输的界面。在拟南芥菜中已经克隆得到一种蔗糖-质子共运输载体 SUC2，这个载体是和质子泵在韧皮部伴胞中共同定位的。这种位置上的相关性可能表明，质子泵形成质子梯度而蔗糖-质子共运输载体则利用质子梯度运输蔗糖。在车前草（*Plantago major*）叶片逐步成熟的过程中，叶片由尖向基逐步发生从库到源的转变，而蔗糖-质子共运输载体 SUC2 也同步进行表达，说明叶细胞光合产物的输出需要 SUC2 的参与。SUC2 已在多种植物中克隆并定位在韧皮部的伴胞。除了 SUC2 之外，在烟草、马铃薯和番茄中还发现另一种蔗糖-质子共运输载体，称为 SUT1。这种蔗糖-质子共运输载体不是定位于伴胞而是定位在筛管分子的质膜，

但是由于筛管分子没有细胞核和核糖体，因此 SUT1 只能在伴胞中合成。

蔗糖-质子共运输载体从质外体向筛管分子运输蔗糖受到筛管分子的渗透势或者膨压的调节。当筛管分子中膨压降低到一定值时就会补偿性地促进装载(因为蔗糖浓度的提高可以促进水分吸收从而提高细胞膨压)。蔗糖的装载也受到蔗糖浓度的调节，质外体蔗糖浓度提高时会增加蔗糖共运输载体的装载。

蔗糖从叶肉细胞外运的机制目前还不清楚。蔗糖外运可以被质外体中的钾所促进，因此适当施肥可以增加向库的运输从而促进库器官的生长。

## (四) 通过共质体途径的韧皮部装载

### 1. 存在共质体途径韧皮部装载

在共质体的装载途径中，细胞间存在胞间连丝是共质体运输的必要条件。在前述的韧皮部伴胞类型一节中，我们已经介绍了中间细胞与周围细胞间有大量胞间连丝存在。因此具有中间细胞类型伴胞的植物中，韧皮部装载可能利用共质体途径。电镜观察结果表明在许多植物中筛管分子和伴胞之间以及筛管分子-伴胞复合体与周围细胞间都具有大量的胞间连丝。利用显微注射的方法将不能跨膜扩散的荧光染料注射到叶肉细胞，发现荧光染料可以从叶肉细胞扩散到小叶脉，或者反过来从中间细胞到维管束鞘和叶肉细胞，但是，还没有证明荧光染料是否能够通过共质体进入筛管分子。当然，细胞间有胞间连丝的存在并不能说明光合产物的运输一定通过共质体的途径。

在锦紫苏属(*Coleus*)中，内源糖装载对 PCMBS 抑制剂的处理不敏感，而外施糖装载进入筛管分子过程却被 PCMBS 所抑制，说明光合作用生产的糖并不是通过质外体途径进入筛管。南瓜的维管束鞘细胞和伴胞间存在大量胞间连丝，同时它的主要运输糖是水苏糖，利用$^{14}C$标记分析质外体糖分，表明质外体缺少水苏糖，因此糖可能是在共质体进行运输。

### 2. 糖共质体装载的机制

筛管汁液的组成和韧皮部中其他组织的溶质的组成是不同的，因此被运输的糖在源中必定要进行选择。在质外体装载途径中，如果假设被运输的糖从叶肉细胞运出和从质外体运入筛管分子-伴胞复合体都是通过膜上的特异性载体，那么糖的选择性运输是可以理解的。但是对于共质体途径的装载就比较难以理解，由于胞间连丝只是细胞间非特异的运输通道(对小分子来说)，很难解释胞间连丝如何对被运输糖进行选择，此外筛管分子-伴胞复合体通常具有较高的膨压和糖浓度，而向其运输同化物的细胞却具有较低的膨压和糖浓度.细胞如何维持糖通过胞间连丝从低浓度向高浓度逆浓度梯度进行运输也是一个难以解释的问题。因此在共质体的韧皮部装载途径中还存在一个利用特异性膜载体以外的控制机制。

Robert Turgeon 提出一个非运输糖在伴胞和筛管分子中转变为运输糖的模型，用以解释通过胞间连丝的共质体韧皮部装载的选择性和逆浓度梯度运输的问题，称之为聚合物陷阱模型(polymer-trapping model)(图 10-10)。聚合物陷阱模型认为：叶肉细胞光合作用中产生的蔗糖和肌醇半乳糖苷通过胞间连丝从维管束鞘细胞扩散进入中间细胞后，在中间细胞中蔗糖被用于合成棉子糖和水苏糖因而被消耗掉，这样就维持了蔗糖从维管束鞘细胞到中间细胞的顺浓度




图 10-10 聚合物陷阱模型

(Taiz & Zeiger 1998)

梯度的运输，同时由于合成的棉子糖和水苏糖具有较大的分子质量而无法通过扩散经胞间连丝回到维管束鞘细胞，而中间细胞和筛管分子间的胞间连丝的较大通透性可以允许中间细胞中合成的棉子糖和水苏糖扩散进入筛管分子，这样被运输的糖（棉子糖和水苏糖）在中间细胞和筛管分子中就会提高。根据聚合物陷阱模型可得如下推论：①蔗糖在叶肉细胞中的浓度应该高于中间细胞；②棉子糖和水苏糖合成所需的酶应该位于中间细胞；③分子质量大于蔗糖的分子不能通过维管束鞘细胞和中间细胞间的胞间连丝。大量生物化学的和免疫学的实验证明，所有的棉子糖和水苏糖合成所需的酶是定位在中间细胞的。

Gamalei 和 Aart van Bel 提出另一模型。认为大多数水苏糖是在叶肉细胞中合成，然后运送到细胞的内质网腔，内质网可以通过胞间连丝从叶肉细胞沿伸到中间细胞。

### （五）扩散进入韧皮部的其他物质

除了碳水化合物外，在筛管汁液中还有一些含量较低的物质，例如有机酸、植物激素等。这些物质进入筛管可能仅仅通过跨质膜的扩散或者被动的运输载体，也可能通过共质体扩散，这些物质一旦进入筛管将随集流被运输。许多施加在植物的物质，例如杀草剂、杀真菌剂等之所以可以随筛管集流运输是因为它们可以适当的速度跨膜扩散进入筛管；同时这样的扩散速度又不至于在随集流运输到达库的过程中使其扩散出筛管造成流失。对于弱酸性的物质在进入筛管后，由于筛管中低 $H^+$ 环境因此带负电荷，带电荷的物质通常难以跨膜扩散，这样弱酸性的物质就会被限制在筛管中随集流输送。

## 二、韧皮部的卸出

### （一）韧皮部卸出的过程

韧皮部卸出（phloem unloading）是指韧皮部进行输出的同化物在库端被运出韧皮部并被邻近生长或储存组织所吸收的过程。韧皮部的卸出从某种意义上讲是韧皮部装载的逆过程。将同化物运输到库，例如新生的嫩叶、生长的根、种子、储藏茎等等的过程叫输入（import）。在输出到达库组织后，同化物将经历以下步骤进行韧皮部卸出：

首先，蔗糖等运输糖被输送出筛管分子，称为筛管分子卸出（sieve-element unloading）；糖被运出筛管分子后，经过一个短距离运输（short-distance transport）被运输到库细胞，这一过程也称之为筛管分子后运输（post-sieve element-transport），库组织中接收被运输糖的细胞叫接收细胞（receiver cell）。最后，糖被库细胞存储或代谢。

这个全过程即韧皮部卸出。

### （二）韧皮部卸出的质外体和共质体途径

在库端，同化物从筛管分子到接收细胞既可以通过质外体的途径也可以通过共质体的途径。但是同化物的卸出比同化物的装载要复杂得多。这是由于卸出可以发生在成熟韧皮部的任何地方，此外不同库的结构和功能变化非常大，它可以是幼嫩的生长叶或根，可以是储藏茎或根，也可以是种子和果实，因此对于植物来说并没有固定的卸出模式。

不同植物以及不同组织器官可能具有不同的韧皮部卸出类型（图 10-11）。一些双子叶植物如甜菜、烟草的幼叶的细胞间有大量的胞间连丝，用抑制糖质外体吸收的抑制剂如 PCMBS 和缺氧都不能抑制这些组织的糖的卸出，因此它们的韧皮部卸出可能采用共质体的途径。但是在单子叶植物如玉米中，筛管和伴胞与周围细胞间缺少胞间连丝，因此可能采用质外体途径进行韧皮部的卸出。在初生根的分生组织和伸长区可能是共质体途径的韧皮部卸出。而在其他库器官，韧皮部卸出则可能经质

外体途径。

韧皮部卸出过程中的共质体的步骤可能发生在筛管分子-伴胞复合体的部位，也可能发生在远离筛管分子-伴胞复合体的部位。例如在种子发育过程中，胚胎组织和母体组织间缺少共质体的连接，因此韧皮部的卸出过程中必然有质外体的运输步骤，但是糖从筛管的卸出却是共质体的，糖从共质体进入质外体并非在筛管分子-伴胞复合体而是在韧皮部到胚胎组织过程中的其他部位。在甜菜的根和甘蔗的茎等储存库中也可能有质外体的韧皮部卸出步骤。在这些储藏组织中植物积累了大量的糖，形成很高的细胞膨压，这对于共质体的运输是不利的，因为糖可能沿浓度梯度和压力梯度返回筛管，而质外体途径则可以避免蔗糖通过共质体回流。在甜菜中，用标记方法证明糖在主根中进入质外体，说明存在质外体的步骤。

在共质体的韧皮部卸出中，蔗糖从筛管分子通过胞间连丝直接进入库组织的细胞，在那里蔗糖被代谢产生能量或形成储存和生长所需的物质。但是在质外体的途径中，被运输的糖在质外体中可能发生部分地转化。例如蔗糖可以被转化酶水解成葡萄糖和果糖，然后进入细胞。在库组织中存在许多单糖的载体，这似乎是和上述假设吻合的。对于有些植物来说，质外体中蔗糖的水解维持了质外体中低的蔗糖浓度，这样利于蔗糖向质外体的扩散。

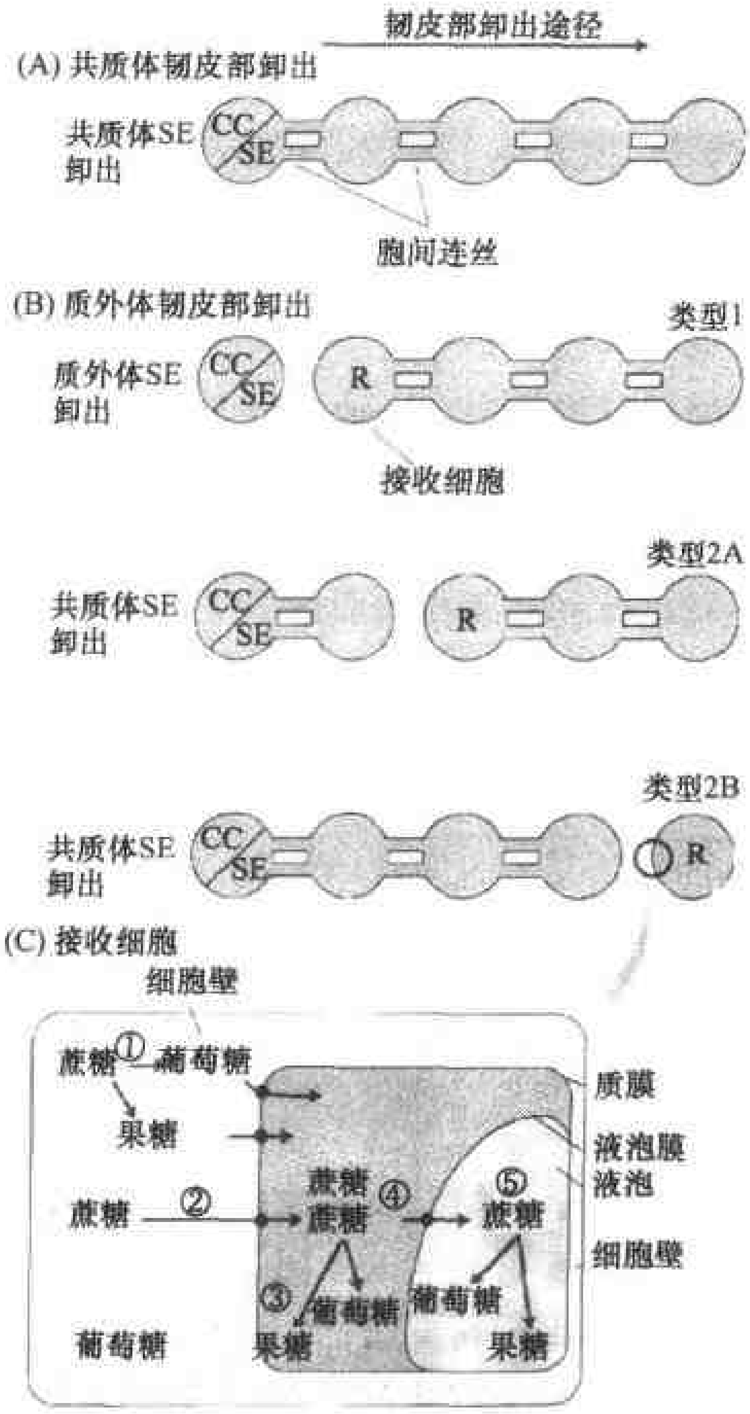



图 10-11 不同植物以及不同组织器官可能具有的不同的韧皮部卸出类型(Taiz & Zeiger 1998)

(A)共质体的韧皮部卸出途径；(B)质外体的韧皮部卸出途径。同化物卸出到质外体可以发生在筛管分子-伴胞复合体处，也可以在韧皮部卸出途径中的其他部位；(C)蔗糖进入接收细胞的可能方式。蔗糖进入质外体后被细胞壁蔗糖酶分解为葡萄糖和果糖之后被接收细胞吸收①，或者直接被接收细胞吸收②；蔗糖进入接收细胞的细胞质后可以被细胞质蔗糖酶分解③，或者直接进入液泡④；在液泡中蔗糖被液泡蔗糖酶分解为葡萄糖和果糖⑤。

## （三）同化物进入库是依赖于代谢活性的

同化物的输入是需能的过程。在幼叶和伸长的根，以及以淀粉和蛋白等多聚体为储存方式的储藏库是利用共质体为韧皮部卸出途径的。在这些细胞中必须进行活跃的呼吸代谢将输入的糖降解或转化以产生能量以及生长和储存所需的物质，从而降低细胞中输入糖的浓度，维持韧皮部和库之间的输入糖的浓度梯度。在共质体途径的韧皮部卸出中，糖沿其浓度梯度通过胞间连丝在细胞间进行扩散，因此共质体途径的韧皮部卸出本身是一个被动运输的过程，并不直接依赖于细胞的代谢，但是这个浓度梯度的维持是直接依赖于细胞代谢的。在有些韧皮部卸出的质外体中，代谢形成的糖浓度梯度也是很重要的，因为较低的质外体浓度有利于糖向质外体的输送。

对于质外体韧皮部卸出，糖需要进行跨膜的运输。在输出的细胞中，糖要跨膜进入质外体；在接收细胞中，糖需要从质外体跨膜吸收；在一些细胞中糖还要跨液泡膜进入液泡。在以前的章节中我们已经提到，糖跨膜运动的载体运输常是主动运输过程，因此是需要代谢能量的。

对种子发育过程的研究证明，蔗糖进入质外体和被吸收进入胚胎都可能通过主动的载体进行运输。麦谷类(如小麦)作物胚胎从质外体吸收糖是主动过程而糖从输出细胞外流进入质外体则是顺浓度梯度的扩散，质外体中糖的低浓度主要依靠胚胎对糖的迅速吸收。在玉米的质外体中，蔗糖被转化酶迅速水解为葡萄糖和果糖，维持了质外体中蔗糖的低浓度。一般来说，在发育的种子中胚胎也采用了蔗糖-质子共运输的机制从质外体吸收蔗糖。

许多植物例如甜菜和甘蔗的储藏组织中，库细胞往往积累很高浓度的蔗糖，这些细胞从质外体跨膜吸收蔗糖的过程是主动运输过程，需要代谢能量。在有些植物的储藏细胞中，蔗糖被运入液泡储存起来，蔗糖跨液泡膜的运输是通过蔗糖-质子反向运输(sucrose-proton antiport)的机制进行的(见第四章)。液泡膜上的 $H^+$-ATPase(质子泵)将质子运入液泡形成跨液泡膜的质子梯度，然后液泡膜上的反向运输载体利用跨液泡膜的质子梯度将液泡外的蔗糖与液泡内的质子交换，把蔗糖输送到液泡内。

## 三、库-源转变中的装载和卸出途径

幼小的叶片是接收同化物的库，在叶片发育的过程中逐步转化为源。双子叶植物的叶片的这种转变大约在叶片生长到其最后大小的 25%时开始，并逐步进行直到生长到其最后大小的 40%～50%时达到完成。叶片输出最早开始于叶的尖端，以后逐渐向叶片的基部发展，直到整个叶片转变为输出同化物的源。在这个转变的过程中同化物的输出和输入可以并存，叶尖进行输出而叶基进行输入。

在叶片的成熟过程中发生着许多结构和功能的变化，其中许多是和库源的转变有关的。在幼叶中同化物的输入通常是共质体途径的，因此以共质体为韧皮部装载途径和以质外体为韧皮部装载途径两类植物的转变有很大的不同。特别是以质外体为韧皮部装载途径的植物，必须有一个从共质体输入到质外体输出的转变过程。

对于以质外体为最终韧皮部装载途径的植物，停止输入和开始输出是两个分离的过程。烟草的白化叶片由于不具备叶绿体而不能进行光合作用因此也不能进行同化物的输出，但是白化叶片如同绿色叶片一样发育到一定阶段就会停止输入。因此在叶片的发育阶段一定发生了某种事件使同化物的输入停止。由于双子叶植物幼叶的输入途径是通过共质体的，如果输入途径中细胞间的胞间连丝被关闭，胞间连丝密度降低，或者其他共质体连续性的破坏都会使同化物的输入和卸出受到阻碍。如果使成熟叶片处于黑暗中并除去其他库就可以诱导其他成熟叶片向该叶片输出，利用标记糖的实验结果表明，输入叶片的糖停留在小叶脉而无法卸出，说明成熟叶片中卸出的途径被阻断。

当韧皮部装载在筛管积累足够量的同化物，输出就会开始。在质外体韧皮部装载的叶片中，当满足下列条件时输出就会启动：①共质体的卸出途径关闭；②叶片可以进行光合作用产生足够量的同化物并可输出；③蔗糖合成的基因已经表达；④在筛管分子-伴胞复合体的质膜上已具有蔗糖-质子共运输载体。

开始库-源转变后，叶片就获得将外源糖(如外施$^{14}C$蔗糖)积累到筛管分子-伴胞复合体的能力，这种积累需要蔗糖-质子共运输载体参与。如前所述，叶片的库-源转变是从叶尖向叶基逐步进行的。在拟南芥叶片发生库-源转变过程中，蔗糖-质子共运输载体的表达也按照这样的模式进行，光合作用同化物的输出能力也同样按照这样的模式。因此对于进行质外体韧皮部装载的植物，蔗糖-质子共运输载体的表达和活性是叶片可以进行同化物输出的重要因素。在库-源转变中负责输出的小叶脉只有在输入完全停止后才能发育成熟。因此，叶片中装载和卸出的途径在空间上是相互分开的。

关于最终进行共质体韧皮部装载的植物叶片是如何进行库-源转变的，目前所知甚少。也许作为库时的共质体途径在库-源转变时仍然维持，只是运输的方向从输入变为输出。在锦紫苏(*Coleus*)的杂色的叶片中有绿色的和白化的区域，成熟叶片白化区域保留着许多库的特征。绿色区域可以运输

同化物到白化区域；如果去除绿色部分，白化区可以从其他成熟叶片输入和卸出同化物，但是却不能从质外体装载外源的蔗糖。

### 四、空胚珠技术

空胚珠技术（empty ovule technique）是研究蔗糖在库端卸出机制的重要手段。空胚珠方法通常用于豆科植物的豆荚。在这类植物中胚囊组织和周围细胞间没有胞间连丝的连接，胚囊和种荚的内皮（endothelium）间没有共质体的连接。在胚囊发育过程中，哺育组织向胚囊运输的营养物质只能通过质外体途径。因此可以通过适当手术将胚珠的胚囊部分除去而留下一个“空胚珠”。由于胚囊从种子中除去，这样就可以对糖从种皮进入质外体的过程进行研究而不会受到胚囊的干扰；同样也可以分别对胚囊吸收糖的过程进行研究。

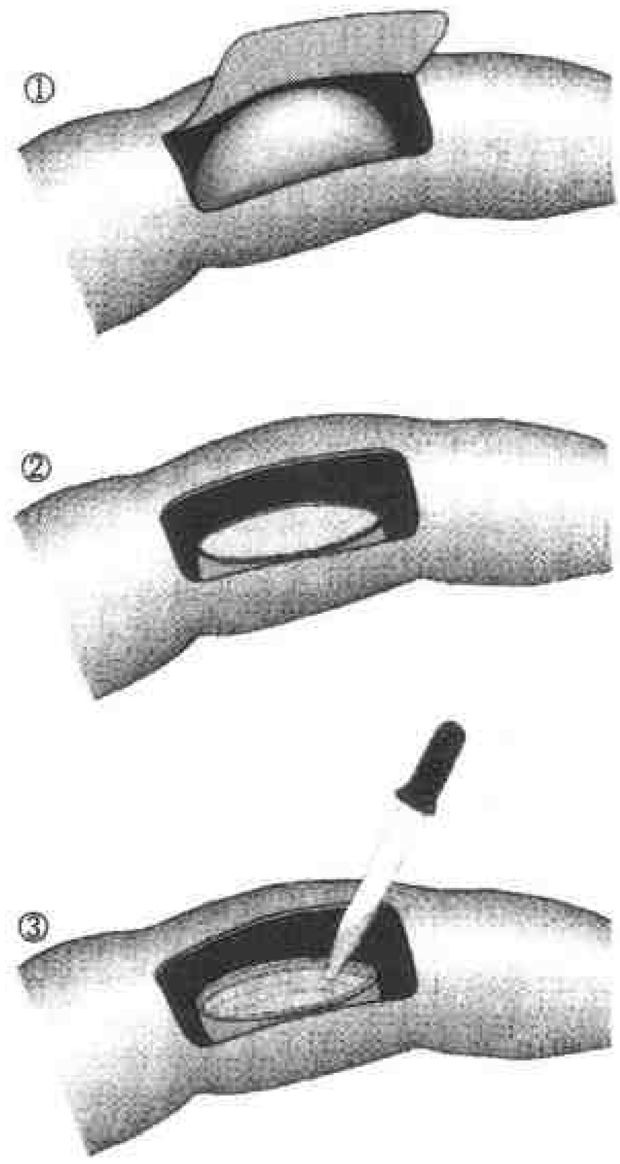



图 10-12　空胚珠技术示意图（Hopkins　1995）
①在豆荚上切出一个“窗口”，②切去种子末端的一半，挖去胚胎组织，形成杯状的只剩种皮的空穴结构，③在空穴中充入缓冲液或琼脂，以接收运输到种子，供胚胎发育用的同化物。

在“空胚珠”中可以加入琼脂或缓冲液，在短时间的恢复之后向库器官的同化物卸出会仍然继续进行，卸出的物质将留在琼脂或缓冲液中，这个过程可以持续数小时（图 10-12）。这样，实验者可以通过琼脂或缓冲液的置换和分析，以及通过改变 pH，加入其他溶质和抑制剂等等对卸出过程进行研究。

空胚珠技术已经成功应用于豆科植物和玉米的种子发育过程中同化物卸出的研究。在豆科植物中，向胚囊的卸出对缺氧、低温，代谢抑制剂以及 PCMBS 敏感，因此蔗糖可能是通过需能的膜载体卸出到质外体的，这个载体可能就是蔗糖-质子共运载体。但是在玉米中蔗糖向胚囊的卸出则相反，对缺氧、低温，代谢抑制剂以及 PCMBS 不敏感。因此不同植物种属的蔗糖向胚囊的卸出存在不同的机制，如前所述，在豆科植物中卸出是需能的过程而在玉米中则是被动的过程。

## 第四节　同化物的配置和分配

植物通过光合作用将空气中 $CO_2$ 中的碳转化为植物可利用的固定碳，叶片中可利用的固定碳的总量是由光合作用的速率决定的，但是固定碳可以被用于光合细胞自身以满足其结构和功能的需要，也可以被输送到不同的库器官以提供其生长的养料或用于储藏，光合作用所固定的碳被用于哪些方面将取决于光合以后的代谢过程。植物将光合固定的碳转移到不同代谢途径的调节作用称为配置（allocation）。光合同化物需要通过维管束运送到各种不同的库，例如幼叶、生长的根、发育的种子、果实等。虽然在许多植物中维管束相互连结形成一个开放的网络，似乎作为源的成熟叶片可以把光合同化物输送到所有的库，但是实际上植物光合同化物的输送是有规律受控制的。植物体中有规律的光合同化物向各库器官输送的模式称为分配（partitioning）。

# 一、同化物的配置

## （一）同化物的配置途径

**1. 光合叶片中的配置**

光合所固定的碳在光合细胞中经配置进入以下三种途径。

(1)光合固定的碳用于合成储存化合物　光合固定的碳可以合成为储存用的化合物。对于大多数植物来说白天在叶绿体中合成淀粉并将其储存在那里，夜间淀粉被动员用于输出，这样的植物被称之为淀粉储存植物(starch storer)。但是在某些植物例如大麦(*Hordeum vulgare*)中固定的碳主要被储存在蔗糖中以备夜间使用，这样的植物称为蔗糖储存植物(sucrose storer)。而在某些草本植物的器官中，果聚糖是主要的储存形式。

(2)光合固定的碳用于光合细胞自身　光合固定的碳可以用于光合细胞自身所需的能量或者合成光合细胞的结构化合物。

(3)光合固定的碳用于合成被运输的化合物　光合固定的碳可以合成被运输的糖然后被输出到各种库组织中。被运输的糖的一部分还可以暂时储存在液泡中。这样的储存方式是一种临时的措施，它是作为蔗糖合成发生短期变化因而出现蔗糖短缺时的一个缓冲库。

**2. 库的配置**

配置在库中也是非常关键的，库细胞配置能力的强弱常决定了库的强度。

一旦运输的糖被卸出并进入接收细胞，它们可以保持原样或者转变为其他的化合物。在储藏库中固定的碳可以蔗糖或己糖形式储存在液泡中或者以淀粉形式储存在淀粉体(amyloplast)中。在生长的库中，糖可以被用于生长所需要的呼吸和其他分子的合成。

## （二）配置的调节

配置是由源叶的关键酶所调节的。

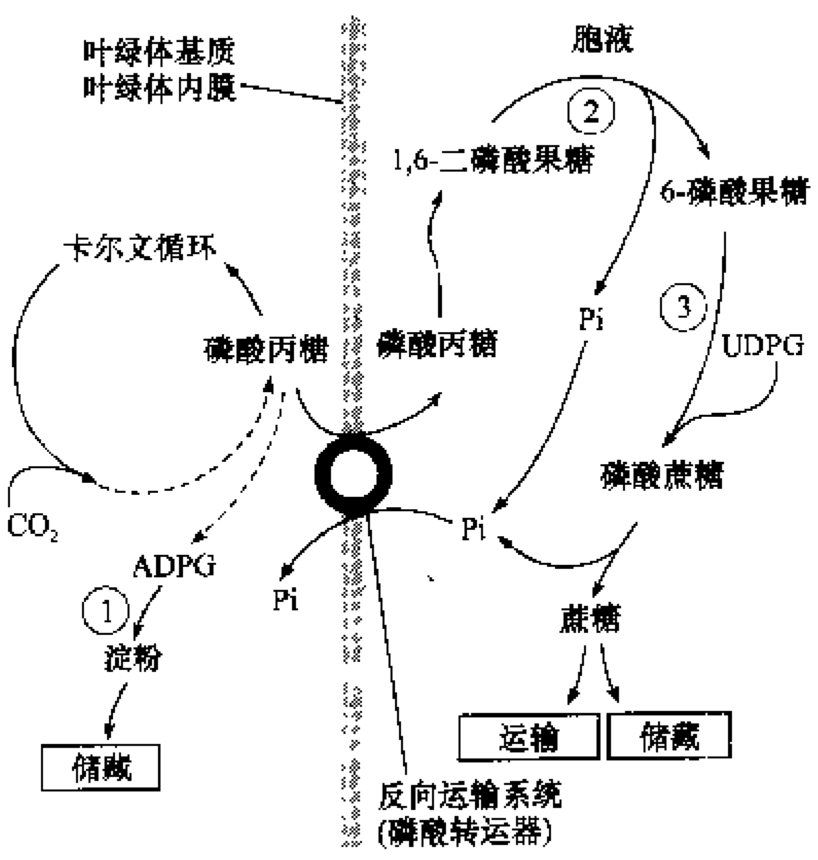



图 10-13　淀粉和蔗糖合成过程中磷酸转运器的作用示意图(Taiz & Zeiger　1998)

磷酸转运器在运出一分子磷酸丙糖的同时运入一分子磷酸，以平衡叶绿体中淀粉的合成和细胞质中蔗糖的合成。

在白天光照条件下，蔗糖的输出依赖于光合细胞的光合速率、光合后的代谢反应以及跨膜的运输等许多过程。虽然光合速率的提高可以增加蔗糖的输出，但是光合固定的碳中可输出的比例，或者运输库(transport pool)比例的大小是由其他过程所决定的。其中一个重要的控制点是磷酸丙糖。磷酸丙糖的配置包括：①加入光合 $C_3$ 循环；②进行淀粉合成；③进行蔗糖合成。许多酶参与磷酸丙糖的加工，对其配置的控制是相当复杂的。

在白天光合细胞同时进行叶绿体中的淀粉合成(用于储存)和细胞质中的蔗糖合成(用于运输)，它们之间的协调是十分重要的。除了维持光合 $C_3$ 循环和细胞其他过程所需外，光合 $C_3$ 循环中产生的磷酸丙糖[3-磷酸甘油醛(glyceraldehyde-3-phosphate)和磷酸二羟丙酮 dihydroxyacetone phosphate)]可以用于淀粉和蔗糖的合成。控制磷酸丙糖从叶绿体的输出是协调叶绿体中淀粉合成和细胞质中蔗糖合成的重要环节。磷酸丙糖

从叶绿体的输出需要位于叶绿体内膜上的磷酸转运器(phosphate translocator)(见第七章)。在细胞质中合成蔗糖需要从叶绿体输出磷酸丙糖,而叶绿体中则需要磷酸供 ATP 合成,在蔗糖的合成过程中又会释放出磷酸,磷酸转运器在运出一分子磷酸丙糖的同时运入一分子磷酸,这样就平衡了叶绿体中淀粉的合成和细胞质中蔗糖的合成(图 10-13)。当细胞质中合成蔗糖时释放出磷酸;磷酸通过磷酸转运器与叶绿体中磷酸丙糖发生交换;叶绿体中淀粉的合成由于磷酸丙糖外运因而减少。因此当输出蔗糖增加时,光合固定的碳进入储存淀粉的比例就会减少。

细胞质蔗糖合成过程中的关键酶是蔗糖磷酸合成酶(sucrose phosphate synthase, SPS)和果糖1,6-二磷酸酶(fructose-1,6-biphosphatase)。叶绿体淀粉合成中的关键酶是 ADPG 焦磷酸酶(ADP-glucose pyrophosphorylase)。这些酶的活性受关键底物的控制。在光照条件下,SPS 的活性是和蔗糖的输出相关的。SPS 催化磷酸蔗糖的合成,磷酸蔗糖再进一步水解形成蔗糖和磷酸。库组织对蔗糖需求的增加会增加蔗糖的输出,进而促进反应的进行。反应过程产生的磷酸会通过磷酸转运器增加叶绿体磷酸丙糖的输出,磷酸丙糖合成的葡萄糖-6-磷酸会刺激 SPS 的活性,增加蔗糖的合成以满足库组织的需要。

但是对于以淀粉为碳储存形式的植物,淀粉中可以转移出去的碳是有限制的。对于在不同条件下淀粉和蔗糖之间配置的研究结果表明,植物通常优先保持其在 24 小时中的输出速率比较恒定。大豆在短日照长度(7 小时光照,17 小时黑暗)条件下减少输出并同时增加淀粉合成;而当长日照(14 小时光照,10 小时黑暗)时淀粉合成的速率则降低。植物在短日时通过增加储存物质以备长夜时输出的需要。现在还不清楚其生物化学的机制。

植物通过非常精细的控制保持供输出的蔗糖合成和供储存的淀粉合成之间的平衡。在日间光合作用处于低水平或停止时,淀粉将发生降解以提供碳源合成输出的蔗糖。但是有研究表明,在夜间叶绿体是以葡萄糖而非磷酸丙糖为碳输出的形式供蔗糖合成。因此,在白天和夜间植物可能采用不同的控制机制来调节蔗糖的合成和输出。在淀粉合成缺陷型的突变体烟草中,植物成倍增加了蔗糖的合成和输出,并且将生长“移”到白天。而白天淀粉合成增加的植物夜间的输出也增加。

## 二、同化物的分配

在植物体内同化物的生产和利用是相互依赖的。虽然同化物的根本来源是植物的光合作用,但是植物的光合作用同时也受到同化物运输和利用的控制,植物是根据同化物的需求来进行同化物的生产的。同时,同化物进入不同组织的分配并不取决于同化物的生产量,库器官对同化物的竞争能力,或者说对同化物的利用能力可能决定了植物体内同化物的分配。一个库的储存和代谢输入糖的能力,或者说配置的能力越强,其从源争夺输出同化物的能力也就越强。这种竞争就决定了运输糖在各种库组织间的分配。

在经济产量的形成中,同化物的运输和分配具有决定的作用。单纯提高光合速率以提高作物产量的办法仍然存在一定问题,通过改善作物的配置和分配也许是提高作物产量的另一途径。如果能够搞清楚作物配置和分配的规律,我们也许能够减少“无谓”的消耗,增加向经济器官的分配,从而达到增加作物产量的目的。

### (一) 库器官的特点

**1. 使用库和储藏库**

库器官可以分为使用库和储藏库两类。

(1)*使用库*　使用库是指大部分输入的同化物被用于生长的组织,如分生组织。例如在大麦须根中,输入的蔗糖大约有 40%被用于呼吸,55%被用于细胞结构的构建。在大部分使用库中,如生长

中的根尖和幼叶、韧皮部与周围细胞间有较多的胞间连丝，韧皮部的卸出通常采用共质体的途径。由于在库组织中蔗糖不断地用于细胞分裂和生长而被消耗掉，在筛管分子-伴胞复合体与库组织间就形成了一个较高的蔗糖浓度梯度，推动了蔗糖从韧皮部向库组织的运输。因此这些库的运输速率是和库的呼吸速率有关的，同时同化物的输入也受到库中细胞的分裂和生长的调节。

(2)储藏库　储藏库是指大部分输入的同化物用于储藏的组织和器官，如果实、块茎、块根等。同化物可以用不同形式进行储藏，例如在甜菜根中以蔗糖形式，而在小麦籽粒胚乳中以淀粉形式进行储藏。在许多储藏库中，韧皮部与周围细胞间有许多胞间连丝存在，因此在韧皮部卸出过程中，筛管分子卸出是通过共质体的，但是其后的筛管分子后运输则涉及质外体的运输。同化物输入可能受储藏过程的控制。同化物储藏的缺陷会导致运输的抑制。在玉米的一个单基因突变体中，由于谷粒淀粉合成中的一个酶有缺陷，因而突变体输入谷粒的同化物比正常植株减少。在储藏淀粉的库中，如小麦胚乳，淀粉的积累速率通常不受蔗糖供应的限制，而是受淀粉合成酶的限制。

**2. 库的可逆性和不可逆性**

在植物体中有一些储藏库，如果实总是持续不断地进行着储藏，而在另一些库，如变态茎，需要不时地重新动用其储藏物质。前者不可逆地输入同化物，其韧皮部的卸出途径是共质体的，称为不可逆库；而后者是可逆地输入同化物，韧皮部的卸出方式可以从共质体的转变为质外体的，称为可逆库。可逆库和不可逆库之间的差异可能是由于它们的韧皮部卸出方式的不同所造成的。不可逆库通常具有完全的共质体卸出方式，而可逆库则需要减少共质体卸出从而可以由输入转变为输出。

## （二）库组织对同化物的竞争

如前所述，同化物从源向库的运输与库组织和源间的相互位置以及源库间有无维管束直接连接等因素有关。库组织对源输出的同化物的竞争是决定同化物运输方向的另一重要因素。例如，生殖器官通常比生长的幼叶和根对同化物有更强的竞争力。

切去一个库组织后，常可观察到与之相竞争的库组织中同化物的输入增加。反过来，如果改变源而仍保留库组织的完整，也可观察到不同库组织间的竞争现象。例如，如果将植株的其他叶片遮光只保留一个叶片，这样植株只有一个源，此叶片在短期内同化物的输出变化不会很大，此时对不同库组织进行观察，结果表明幼叶比根可以获得更多的同化物，说明叶是比根更强的库。

竞争能力比较强的库可能具有较强的从库区筛管分子的汁液中卸出溶质的能力，这样库端筛管分子的膨压就比较低，源库间的膨压差也就比较大，因此具有较强的吸引从源输出的同化物的能力。用短期降低库端水势方法也可以人为地促进同化物向该库运输。例如用甘露醇处理豌豆苗的根尖可以增加$^{14}$C 蔗糖的输入，350mmol/L 甘露醇的处理可以使蔗糖输入增加约 30%。虽然提高源端筛管分子的膨压同样可以达到提高源库间膨压差的目的，但是过高的源端膨压不利于光合细胞向筛管的装载，因此更可能的途径是降低库端筛管分子的膨压。

## （三）库　强　度

库的竞争能力可以用库强度来表示。库强度(sink strength)指库组织动员，输入同化物的能力。可以用下式表示：

$$库强度=库容量\times库活力$$

库活力(sink activity)是指单位重量的库组织吸收同化物的速率；而库容量(sink size)是指库组织的总重量。改变库活力或者库容量都会改变运输的样式。例如一个豆荚输入蔗糖的能力不仅与豆荚吸收同化物的活力有关而且取决于那个豆荚的干重占整个生殖器官(全部豆荚)干重的比例。

库活力是一个受多种因素影响的指标，用相对生长速率表示，输入速率受库组织的代谢活性所调

节。这些代谢活性涉及韧皮部卸出、细胞壁内的代谢活动、同化物的重新吸收、器官的生长潜势和储藏功能等许多因素。如果低温处理库组织会使其代谢活动降低因而降低该库组织的输入速率。库活力与酸性蔗糖酶和蔗糖合成酶的存在和活性有关，因为它们催化蔗糖使用的第一步反应。酸性蔗糖酶催化蔗糖降解为葡萄糖和果糖的不可逆反应，它在酸性条件(pH 3.5～5.0)下活性高，它可以有两种形式：结合到细胞壁或以可溶形式存在于液泡。蔗糖合成酶催化可逆的反应，它常催化蔗糖的降解，在UDP存在的条件下产生UDP-葡萄糖和果糖。这些酶参与了蔗糖的分配、利用和储存，它们的作用取决于植物器官和发育阶段。库细胞中的蔗糖酶参与库的早期生长和扩张；而蔗糖合成酶则在库发育的储存阶段的多聚糖合成过程中起作用。

这些酶是通过什么方式来影响植物的分配？如前所述，加强库组织从筛管分子卸出同化物的能力可以增加向该库的运输。这些酶可以加强蔗糖的水解来促进蔗糖的卸出。当库是质外体途径的韧皮部卸出时，结合在细胞壁上的蔗糖酶可以水解蔗糖，降低共质体中蔗糖的浓度，使筛管分子内外的蔗糖浓度梯度加大，因而促进蔗糖的卸出。对于库是共质体途径的韧皮部卸出时，接收细胞中的蔗糖酶和蔗糖合成酶可以通过降解蔗糖来维持一个较低水平的蔗糖浓度，在筛管分子和接收细胞间形成较陡的蔗糖浓度梯度，促进经筛管分子沿胞间连丝向接收细胞的扩散，也就促进了蔗糖的卸出。由于卸出能力的加强，这些库就具有较强的竞争能力。

植物是否通过这些酶来控制库的库强度或者这些酶只是伴随库细胞代谢的改变而改变，这是目前研究者们非常关注的一个问题。蔗糖酶和蔗糖合成酶的基因表达是受碳水化合物供应所调控的。一般来说，碳水化合物的消耗促进与光合作用、储备动员和输出过程相关基因的表达，而碳水化合物的过剩则促进储存和利用过程的基因的表达。值得注意的是，多基因编码的不同类型的蔗糖酶和蔗糖合成酶能够以相反的方式受蔗糖供应的调节以满足植物的不同需要。例如，一种蔗糖合成酶基因的mRNA在玉米根组织中广泛分布，当蔗糖含量丰富时表达水平最高；另一种蔗糖合成酶基因的mRNA在表皮和根的外部组织中含量丰富，但是却在蔗糖被消耗的情况下表达最高。这样，当蔗糖输出较高时在所有组织中蔗糖的利用都比较高，而当蔗糖供应较少时蔗糖被逐渐限制在对水分和矿质吸收最关键的部位。此外，蔗糖酶和蔗糖合成酶在库发育的过程中在不同阶段进行表达。在豆荚和玉米谷粒中蔗糖酶活性的变化发生在同化物输入发生变化之前。因此，蔗糖酶和蔗糖合成酶可能在基因控制的发育过程或者是对逆境的反应中都对输入模式起着控制的作用。

玉米和柑橘的装载、卸出端的伴胞中都具有另一类常位于液泡的蔗糖合成酶，推测这种酶在这里起生产ATP用于装载以及生产UDP葡萄糖用于胼胝质的合成。

## 三、源库的协调

源库间的事件应该是同步的。分配决定了生长，而生长又必须在茎叶生长(进行光合生产)和根生长(水分和矿质吸收)之间进行平衡。因此在供需的相互作用之间必须有一个控制机制。

### (一) 库需求对源的调节

**1. 源叶的代谢受库需求的调节**

虽然库器官对同化物的需求最终要依赖于源叶的光合作用，但是库的需求对源叶的代谢有非常重要的调节作用。如果只对植株的一片成熟叶进行照光而将其他叶进行较长期的遮光(例如一周)，这种处理对于保留的叶片(源)来说相当于库需求的增加，结果源叶代谢会发生许多的变化，如淀粉的含量下降，光合速率提高，核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶-氧合酶(Rubisco)活性提高，蔗糖含量提高，源输出增加，正磷酸盐(orthophosphate)含量增加等。因此虽然短期改变源库的比例只会引起同化物的分配发生变化(如我们在库组织竞争中所介绍的遮光实验)，但长期的源库比例的变化会使源的代谢发

生调整以适应变化了的情况。反之，当库需求减少时光合速率会随之减少。对于淀粉储存植物来说，在白天库需求的减少会强烈抑制光合作用。

**2. 库需求调节源叶代谢的机制**

光合叶中同化物（淀粉、蔗糖和己糖）是否发生积累可能是联系库需求和光合作用的重要因素。其可能的作用机制有以下几方面：

（1）磷酸的可利用性　当库需求降低时，光合作用可能会由于叶绿体中磷酸浓度的降低而受到限制。当库需求低时，蔗糖的合成会降低，可用于通过磷酸转运器与叶绿体中磷酸丙糖交换的磷酸就会减少。虽然淀粉合成可以释放正磷酸盐（orthophosphate），但是如果淀粉合成不能很快地循环磷酸，ATP 合成就会减少进而 $CO_2$ 的固定减少，光合作用也就受到限制。有实验证据支持这一假说。在马铃薯中转化磷酸转运器的反义 DNA，使转化植物中磷酸转运器活性降低，表现出光合固定的碳在配置比例上更多地进入淀粉而较少地进入蔗糖。这一效应伴随着植株光合作用的光合 $CO_2$ 的饱和速率的降低，表明光合作用也受到抑制。

（2）糖的调节作用　高水平的糖会使许多光合作用的酶的转录速度和基因表达降低。如前所述，较长期源库比例的改变会引起源细胞代谢的变化，这个变化的时间进程是和基因表达的变化相一致的。当抑制菠菜成熟叶的输出，造成碳水化合物积累时，一些光合作用酶的 mRNA 水平下降。虽然转录在处理后很快下降，但是光合作用酶活性的改变只是在数天后才明显起来。因此光合作用的抑制除了有磷酸缺乏的原因之外基因表达的调控也可能是另一重要原因。

## （二）长距离传递信号可能协调源和库的活性

源库关系也可能通过一些长距离的信号传递进行协调。源和库之间的信号可以是物理的（如膨压）或者化学的（如激素或碳水化合物）。

**1. 膨压变化**

膨压的变化可以非常迅速地通过相互连通的筛管分子从库传递到源。例如当库端筛管分子进行迅速卸出时会降低库端筛管分子的膨压，这个膨压的变动可以很快传递到源端。如果源端装载受筛管分子膨压的部分控制，这个信号会使源的装载增加；反之，当库端卸出减少时源端的装载也就减少。细胞膨压会改变膜上质子泵 ATPase 的活性影响跨膜的运输。例如把甜菜根浸入甘露醇溶液，使细胞的膨压下降，结果刺激质子的排出。

**2. 激素**

植株芽产生的生长调节物质，如生长素可以通过韧皮部迅速运输到根；根产生的细胞分裂素则从木质部运输到芽；赤霉素和脱落酸也是通过维管束在植物整体运输的。植物激素在源-库关系的调节中至少起间接的作用。它们控制库的生长、叶的衰老和其他发育过程，因而调节同化物的分配。

质外体装载和卸出途径中跨膜的主动运输载体是激素可能的调节位点。用外源激素的实验结果支持这一假说。蓖麻种籽的蔗糖装载被外源 IAA 所刺激，被 ABA 抑制；而甜菜主根组织的蔗糖吸收则被 ABA 所促进，被 IAA 抑制。其他卸出中的可能激素调节位点包括液泡膜的载体、进行糖代谢的酶、细胞壁的可延展性以及胞间连丝的通透性等。

**3. 糖**

如前所述，糖水平会影响光合作用基因和糖水解酶基因的表达。而细胞中许多酶对糖的消耗和富集是敏感的。这样，糖不仅在韧皮部进行运输，而且糖或其代谢物还可以作为信号分子调节源和库的活性。在一些源-库系统，糖和其他代谢物可以与激素相互作用调控基因的表达。

## （三）胞间连丝可能是整体植物运输的控制位点

对于韧皮部运输中装载和卸出的共质体短距离运输来说，胞间连丝的重要性是显而易见的。胞

间连丝有着动态的复杂结构，可以控制小分子在细胞间的扩散。当细胞间存在较大的压力差时它们之间的胞间连丝会关闭，并且关闭的程度是和细胞间压力差的大小相关的。细胞内游离钙水平可以调节胼胝质的沉积，封闭胞间连丝。植物激素，如 IAA 和 ABA 可以通过磷酸肌醇第二信使系统改变细胞内的钙浓度，进而控制胞间连丝的通透水平。

某些信息大分子如 RNA 和蛋白质也可以通过胞间连丝在细胞间运输。植物病毒编码的运动蛋白可以改变胞间连丝的通透性帮助病毒核酸通过胞间连丝。用烟草花叶病毒的运动蛋白的基因转化烟草和马铃薯，转化植株源叶的配置和整体植物的分配都发生了改变。转化植株源叶中淀粉和蔗糖的水平较正常植株低。

## 四、同化物的再利用和再分配

虽然光合作用是植物同化物的最主要来源，但是植物体在一定发育时期常发生同化物的再分配和再利用。细胞的内含物，无论是无机离子或是有机物质，甚至细胞器也可以发生降解然后被运输出细胞并转移到植物体的生长部分或储藏器官，被重复利用以避免浪费。例如在植物叶片衰老时，叶中的同化物可以进行“撤退”，转移到其他储藏或生长组织中去。

在生殖生长的植物中，营养体细胞的内含物会向生殖体转移。例如小麦籽粒在达到其最终饱满度的 25%时，植株对氮和磷的吸收已经完成 90%，因此籽粒在其后的充实中主要是依靠营养体中物质的再利用和再分配。小麦叶片在衰老过程中，有 85%的氮和 90%的磷会转移到穗中去。在果实、鳞茎、块茎、根茎等延存器官发育成熟过程中，营养体中的同化物也会再分配向延存器官转移，结果是营养器官的衰老。如果去除生殖器官常可延缓营养器官的衰老。因此同化物在植物体内的再利用和再分配是植物生长发育的重要生理过程，是植物在长期进化中形成的。

同化物的再利用和再分配在作物的产量形成中也有重要的意义。例如北方农民所用的“三蹲棵”的作法，在霜冻之前将玉米连杆带穗收割，竖立成垛，使茎叶不致冻死，这样茎叶中的同化物会继续向穗转移，据测可提高玉米千粒重 5%~10%。小麦、水稻等作物适当延迟脱粒也可能有增加粒重的作用。

## 小　　结

韧皮部的运输是光合作用产物从成熟叶向生长或者储藏组织的运动过程。植物体中同化物的重新分配也是通过韧皮部进行的。糖和其他有机物在韧皮部主要是经由筛管分子组成的筛管运输到植物的各部分。筛管分子-伴胞复合体是韧皮部适应其运输功能的高度特化的结构。同化物的运输是在筛管中以集流的方式进行的，目前被普遍接受的有关韧皮部运输机制的假说仍然是压力流动学说。一般而言，韧皮部运输的基本模式是从源到库。源是指生产同化物以及向其他器官提供营养的器官，而库则是指消耗或积累同化物的接纳器官。韧皮部中运输的主要溶质是碳水化合物。蔗糖是最通常的运输形式。韧皮部汁液也含有其他分子如氨基酸、植物激素和无机物等。同化物在源端的装载和库端的卸出都存在质外体的和共质体的途径。植物通过配置协调各代谢过程对同化物的需求，而通过分配协调同化物向各库器官的输送。源库间的关系是相互依存的。源的同化物输出依赖于库器官的形成和代谢，而库器官不仅从源器官获得同化物同时也对源器官的同化物输出进行调节。同化物还可以被植物再分配和再利用。

**思考题**

(1) 如何证明植物体中的同化物运输是通过韧皮部运输的?

(2) 筛管和伴胞各有哪些类型，它们各有哪些形态解剖上的特征?

(3) P蛋白是指哪一类蛋白，它们的可能功能是什么？
(4) 什么是同化物运输的源和库，源库间的同化物运输存在哪些规律？
(5) 什么是压力流动学说？有哪些研究证据支持该学说？
(6) 什么是韧皮部的装载？韧皮部的装载包括哪些途径和类型？韧皮部装载途径及类型和参与装载的细胞的结构和所运输的糖的种类有何关联？
(7) 在不同的装载途径中，糖是如何被运出和运入细胞或在细胞间进行运输的？
(8) 什么是韧皮部的卸出？植物体如何进行同化物卸出？
(9) 什么是光合作用产生的同化物的配置，同化物的配置受哪些因素的调控？
(10) 什么是同化物的分配？源和库之间的关系如何影响同化物的分配？

# 第三部分　植物的生长发育

## 第十一章　植物的生长、分化和发育

植物的生长发育机理一直是植物科学的主要研究领域。早期的研究主要对植物生长发育过程进行形态上的观察和描述，如今人们更重视探索其内在的分子机制。

植物的生长(growth)，是指植物在体积、重量、数目等形态指标方面的增加，是一种量的变化。植物分化(differentiation)是指植物细胞在结构、功能和生理生化性质方面发生的变化，是一种反映不同细胞之间区别的质的变化。而所谓发育(development)，则是植物生长和分化的总和，是植物生长分化的动态过程。从分子生物学的观点来看，植物的生长、分化和发育的本质是基因按照特定的程序表达而引起植物生理生化活动和形态结构上的变化。

一个受精卵如何发育成为一个幼胚，一个幼胚又如何发育成为一株幼苗呢？植物的器官由各种组织构成，而各种组织又由不同功能的细胞组成，那么植物组织如何按照特定的方式组成器官，植物细胞又是如何分化形成各种组织的呢？本章将通过这些问题的讨论，简要地介绍关于植物生长发育过程及其控制机制的一些基本知识。

植物的地上部分都是通过茎尖分化和生长产生的。分析植物茎尖生长状态在空间和时间上的变化规律，将有助于理解植物生长发育是动态过程的概念。

植物生长分化的基本单位是细胞，本章将从细胞分裂开始，介绍细胞分化过程及其控制因素，如极性、位置效应等，同时简要介绍程序性细胞死亡的概念。

植物发育是从胚胎发生开始的，胚胎构成了植物体的基本轮廓，建立了植物生长发育的基本模式；同时还形成了植物持续生长所需要的分生组织，使成年植物可以继续繁衍新的器官和组织。所以本章将重点讨论植物胚胎的发育及其基因控制。

与动物发育不同的是，植物发育是一个持续进行的过程。本章将讨论植物根和茎中分生组织的分裂特性，以及控制这些分生细胞的分裂方向的各种因素。

植物从营养生长到生殖生长的转化以及植物生殖生长的内容，将在其他章节讨论。

### 第一节　植物生长分析

植物的生长是一个动态的过程。植物顶端分生组织具有不断地产生新细胞的能力，但是顶端分生组织细胞生长比较缓慢，而在亚顶端组织的细胞生长却非常迅速。根据细胞性质的不同和环境条件的不同，生长细胞的体积可增加几倍甚至上百倍。

植物顶端分生组织按照特定的方式衍生出不同器官的原始细胞，亚顶端组织内细胞的分裂和扩张状态很大程度上决定了初生植物的外观形态。所以植物的生长可以看作是细胞分裂和扩张的结果。

本节讨论的是如何利用数量的概念从空间和时间上来描述植物的生长状态，也称为植物生长分析。

# 一、植物生长的测量指标

植物的生长是一种不可逆的体积增加的过程。膨压促进细胞扩张生长，使细胞体积成倍地增加，并高度液泡化。所以植物的体积大小（通常可以用长度或直径来粗略代表）可以作为测量植物生长的一个重要指标。鲜重（即生活状态下的植物重量）的变化也可以作为一个测量指标，但是生长在自然条件下的植物鲜重会随着土壤水分状况和其他环境条件的变化发生较大的波动，所以人们用干重的变化来衡量植物的生长状况。植物生长过程中体积的增大通常伴随着干重的增加，但是也存在着例外的情况。例如种子萌发过程中，在光合作用没有能弥补幼苗生长的能量消耗之前，是一个干物质总量净减的过程，也就是干重下降的过程，而幼苗的体积却明显地增加。

细胞数在测定细胞种类比较单纯的植物个体或组织的生长速度时是一个比较方便常用的指标，例如一些绿藻、培养的细胞等。通常情况下，细胞数目的增加，导致组织体积的增加，但是在多细胞的高等植物发育过程中的某些阶段，细胞数目增加了，植物体积却保持不变，例如在胚胎发育的早期，合子持续分裂成较小的细胞，但是胚胎的净体积没有增加，直到三次分裂达到 8 细胞阶段后，胚胎体积才开始增加（参见本章第二节）。这是因为受精卵本身是一个比较大的细胞，生长发育过程中细胞数目与胚胎体积没有同步增加；反过来，有时植物体积增加而细胞数目不增加，例如用 γ 射线照射植物幼胚，会使细胞丧失有丝分裂能力，这种幼胚在适当条件下仍然能够萌发生长成完整的幼苗，称为 γ 幼苗，其寿命非常短。虽然上述例子都比较特殊，但可以看出，无论是哪个指标，如果单独用来进行植物生长的测定，都可能存在一些潜在的问题，不能完整客观地描述植物的生长状态。

植物的生长过程主要包括细胞的分裂和扩大。多数情况下，特别是在分生组织中，细胞每经过一个细胞周期，都分裂成为两个体积大小相似的细胞，同时外观体积增加一倍。顶端分生组织的细胞分裂可以增加细胞数目，但细胞扩大速度比较慢，而在细胞停止分裂的亚顶端区域，细胞会发生快速的伸长生长。例如有一种矮化的拟南芥突变体（*stil1*），虽然顶端分生组织的细胞分裂和细胞扩张正常，但亚顶端区域的细胞伸长生长受到阻碍，表现出显著的矮化形态。这个例子说明亚顶端组织细胞的快速伸长生长对植物整体的生长贡献最大。顶端分生组织产生的细胞数目越多，后期由于细胞伸长生长形成的整体植物的生长就越快。周期素（cyclin，即细胞周期蛋白）是控制细胞分裂周期的重要因子，其含量的增加，可以使细胞周期缩短，单位时间内细胞分裂的次数增多，产生的细胞数目增加。如将编码周期素的基因导入拟南芥中，转基因拟南芥的根比野生型拟南芥根具有更多的细胞数目和更长的长度。

# 二、植物生长的分析方法

## （一）植物生长的流体运动学性质




图 11-1　双子叶植物上胚轴弯钩及其生长呈现典型的流体运动状态（Taiz & Zeiger　1998）

由不断生长着的细胞构成一个相对稳定的整体形态。如果在弯勾上的某一位点作一标记，经过一段时间后，这个标记会沿箭头所示的方向从弯钩的一侧“流向”另外一侧，表示构成弯钩的细胞处于不断的更新和生长过程中。

植物顶端分生组织每经过一轮细胞分裂，就形成一批新的细胞，原有的细胞离开顶端的距离就会增加，随着这些细胞伸长生长的加速，它们离开顶端的距离渐远，离开的速度也加大。所以，从这个角度来看，植物的生长可以被看作某一细胞远离顶端的位移过程。描述这个过程可以利用流体运动学（kinematics）的一些原理。因为植物的生长状态与流体运动具有某些相似的地方，即植物也是由一些不断生长运动和变化着的细胞、组织构成的具有相对固定形态的物体。就象喷泉一样，尽管构成喷泉

的每滴水珠都在不断的运动和变化，但是这些水珠集合形成的喷泉却具有相对固定的形态。

植物生长的流体运动学形态可以用下面的例子来说明。双子叶植物种子萌发形成的幼苗顶端有一个弯钩(hook)(图 11-1)，这个弯钩的作用是在萌发过程中保护茎尖不被土壤损伤，随着幼苗的生长，这个弯钩位置不断地上升，从下胚轴到上胚轴再到第一和第二茎节，但是这个弯钩的形态总是维持稳定的。假设站在茎尖顶端来观察弯钩，会发现弯钩的位置也是相对静止的，总是维持在距离茎尖顶端 5mm 左右的位置，而弯钩两侧的茎组织总是维持一个直的形态。

植物根尖的生长状态和上述例子相似，即由不断变化运动的细胞构成一个相对静止的根尖形态。如果我们在根尖端观察的话，距离根尖相同距离的细胞形态大致相同，一般情况下，植物根尖细胞分裂区域在距根尖端 2mm 处，筛管发育开始于距根尖端 3mm 处，木质部在距根尖端 12mm 处开始形成，根尖的伸长区一般在距根尖端 10mm 处。如果在根尖端附近标记一个细胞，会发现这个细胞首先流入分裂区，然后流入细胞伸长区，最后流入木质部韧皮部分化区。这种位置和形态的变化反映了植物细胞生长发育经历的分裂、伸长和分化几个阶段。

## (二) 植物的生长曲线

描述植物生长状态可以有两种方式，一种称为总体描述(spatial description)，即利用照片或图形的方式对某一特定时刻的植物外观进行记录或描述，例如图 11-1 表示的双子叶幼苗的弯钩形态；另一种方式称为具体描述(material description)，即对某一个具体的植物细胞或组织单元在一段时间内发生的形态变化的描述。下面介绍三种能反映植物生长总体状态或具体状态的数学描述方式。

**1. 生长轨迹曲线**

植物茎或根的尖端生长活跃的区域称为生长区(growth zone)，随着生长的进行，分生组织不断地形成新的细胞，取代旧细胞的位置。这些细胞一部分仍然作为新的的分生组织继续分裂，另一部分则停止分裂开始伸长生长，构成了植物的生长区。如果在这个生长区内作一系列等距离的标记，会发现随着生长的进行，这些标记之间的相对距离会发生变化，根据这些标记与茎尖顶端距离的不同，其移动的速度也不尽相同；换一个角度来看这个问题，假设站在茎尖端位置向下来观察这些标记的运动情况，会发现这些标记分别以不同的速度沿着茎干向后退行。

在茎或根上某一点做一个标记[代表一个组织单元(tisssue element)]，那么它与茎尖端或根尖端之间的距离将随着时间的推移而增大。如果将该距离随时间变化的关系做成一个函数图(图11-2A)，就是标记点(组织单元)的“生长轨迹”(growth trajectory)曲线。该轨迹曲线上任一点的斜率代表该组织单元相应时刻的生长速率。此轨迹图是一个上弦曲线，表示该组织单元的生长速率随着时间的增加越来越快，最后达到一个比较恒定的速率。这是因为随着时间的增加，分生细胞不断分裂，该组织单元与尖端之间区域内的细胞数目不断增加，细胞伸长生长量的总和增大，该组织单元离开茎尖端的速率也增加。例如在快速生长的玉米根上，一个组织单元从距根尖 2mm 处(分生区)移动到 12mm 处(伸长区末端)需要 8 小时，平均速率大约是 1～2 mm/h，但是在这个生长阶段内，根系的组织单元呈加速生长的状态。在伸长区之后，组织单元的生长速率恒定，同时也达到其最快的生长速率，大约是 3mm/h，这个速率等于根尖端离开土壤表面的速率，即整个根系生长的总速率。

生长轨迹曲线是植物生长的具体描述，它反映了植物的某一组织单元在一定的时间阶段内发生的位置变化。

**2. 生长速率曲线**

如果以组织单元的生长速率为纵坐标，以它们和茎(根)尖顶端的距离为横坐标作图，便得到植物的生长速率曲线(velocity profile)(图 11-2B)。从图中可以看出，玉米初生根伸长区的生长速率最高，至伸长区末端达到恒定。在快速生长的玉米初生根上，距离根尖 4mm 处的生长速率是 1mm/h，在伸

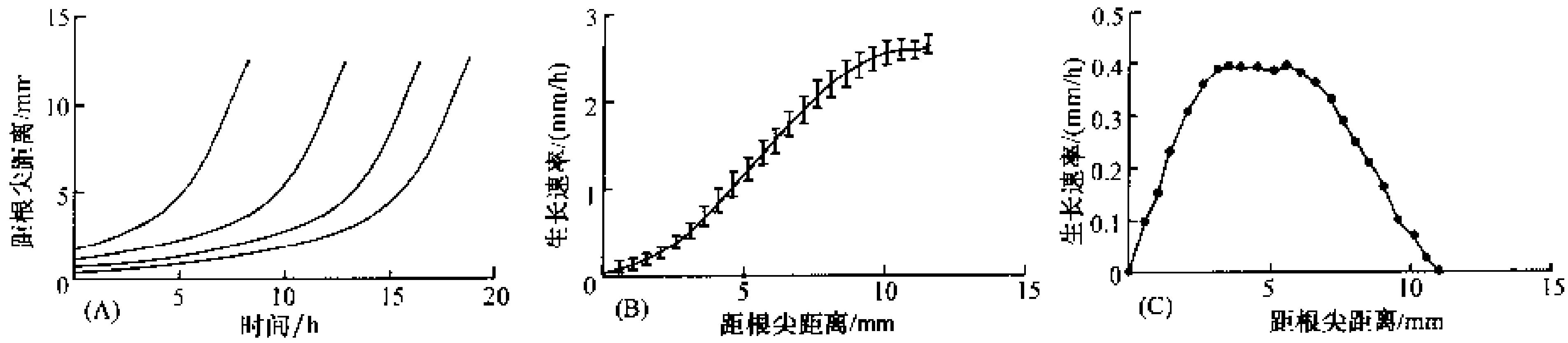



图 11-2 玉米初生根的三种生长曲线(Taiz & Zeiger 1998)

(A)生长轨迹图;图中的每一条曲线都代表根上的某一点与根尖之间的距离随时间的变化情况;(B)生长速率图;该图表示根上的每一点相对于根尖的生长速率与此点和根尖之间的距离有关,里根尖越近,生长速率越小,离根尖越远,生长速率越大,最后达到一个恒定值,此值即为根的伸长生长速率;(C)相对生长速率图。该图表示根上每点自身的相对生长速率(dv/dx)与其位置的关系,从图中可以判别根上生长最快的区域为距根尖 3~6mm 处。

长区的末端即距根尖 12mm 处,生长速率可以达到 3mm/h。

生长速率图谱是对植物生长的总体描述。因为它反映了植物整体在某特定时刻下的生长状态。

**3. 相对生长速率曲线**

所谓相对生长速率是指植物的某一组织单元本身的伸长速率,即该组织单元两端之间的相对距离在单位时间内的变化量。该组织单元的伸长速率与其长度的微分,就是该组织单元的相对生长速率(relative elemental growth rate),可以用下式表示:$r=dv/dx$,其中 $r$ 为点 $x$ 处的相对生长速率。如果测量一段长度为 $L$ 的组织单元在单位时间内的长度变化,那么对于该组织单元来讲,其相对生长速率 $r=(1/L)(dL/dt)$。

图 11-2C 显示的植物相对生长速率图谱是一种对植物的总体描述,反映了植物在某一时刻各部分的生长速率。从图中可以看出,玉米根系中,在距根尖端 4mm 处的相对生长速率最大,是 0.4mm/h,而在伸长区末端(距根尖端 12mm 处)的相对生长速率为 0。这意味着细胞伸长速率在从根尖到伸长区的 4mm 处时越来越快,而从 4mm 处到伸长区末端 12mm 处其伸长速率越来越慢,直到最终停止伸长生长。

## 第二节 植物细胞的生长和分化

尽管植物的种类繁多,形态更是千差万别,但是所有植物的生长发育的基本单位都是细胞,所有细胞的分裂、生长和分化三个过程的总和,构成了植物的生长发育。细胞分裂、生长和分化的不同状态,从而构成了植物的不同组织和不同形态。

### 一、植物细胞分裂

植物个体的形成很大程度上依赖植物初生分生组织和次生分生组织的细胞分裂。图 11-3 是细胞周期的示意图。细胞周期分期的主要依据是核分裂过程中 DNA 复制状态,在有丝分裂结束后和 DNA 复制开始之前,细胞处于生长期,即 $G_1$ 期;然后是 DNA 复制期(S 期);DNA 复制之后还有一个生长期($G_2$ 期);最后是有丝分裂期(M 期),完成整个细胞周期。

在分生组织中,细胞分裂可以持续的重复下去,也可以停止分裂,进行扩大生长和分化。如图 11-3 所示,植物细胞在有丝分裂完成后脱离细胞周期进入生长分化,其核内的染色质为二倍体(diploid);但有时细胞在有丝分裂进行之前、S 期完成之后脱离细胞周期进入生长分化,则核内的染色质

为四倍体或更多，即所谓的多倍体(polyploid)。

反之，已经分化的细胞在特定的情况下可以重新进行分裂，即所谓的脱分化(dedifferentiation)。动物细胞很少发生脱分化，而植物细胞在组织受伤或叶片脱落时，伤口或叶痕附近的细胞通常会发生脱分化进入细胞周期，重新分裂形成愈伤组织。而且通常脱分化细胞进入细胞周期的位置，与其停止分裂离开细胞周期的位置相同。

几乎所有的植物生活细胞都具有脱分化的能力，高度分化的筛管细胞和气孔的保卫细胞也可以在刺激条件的存在下进行分裂。愈伤组织形成过程中，脱分化细胞分裂若干次后通常就会停止，重新进入再分化。但是只要条件许可，植物细胞的分裂能力几乎是无限的。

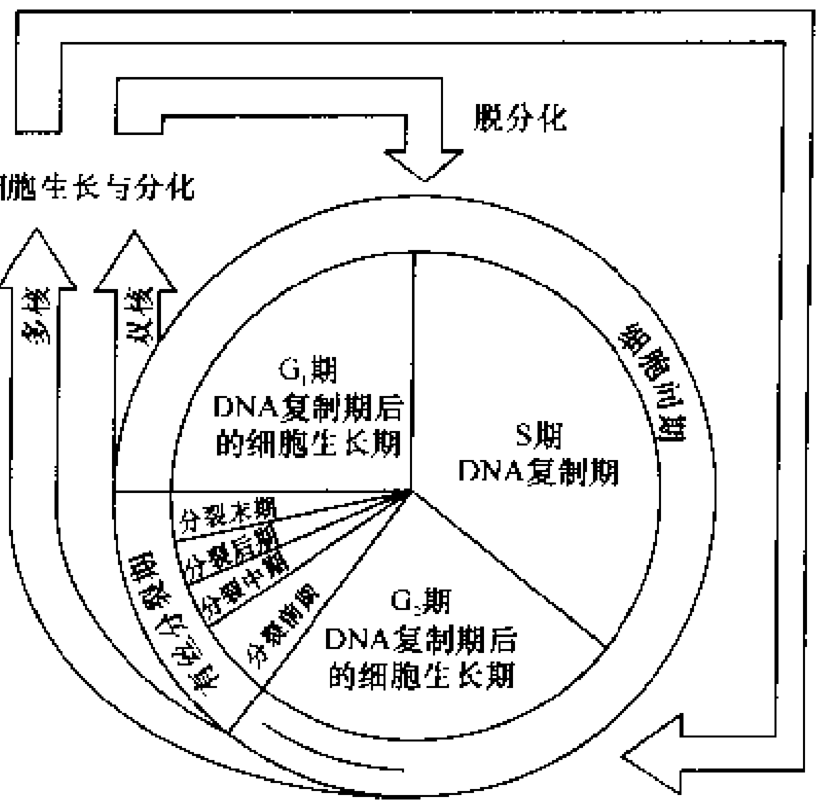



图 11 3　植物细胞周期示意图

(Salisbury & Ross　1992)

不同类型细胞各期的长短有所差异。植物细胞具有脱分化的能力，即在某些特定条件的诱导下，可以从分化细胞重新进入细胞分裂周期，恢复分裂能力。细胞脱分化进入细胞周期的位点与该细胞离开细胞周期的位点相同。另外，如果细胞在S期之后、有丝分裂期之前脱离细胞周期，就形成了多倍体细胞。

## 二、植物细胞分化

### (一) 细胞分化过程四步模式

分化是细胞在结构、代谢和生理功能上区别于原分生细胞的过程。由于植物细胞的全能性，除了那些丧失细胞核的分化细胞之外，植物细胞的分化是一个可逆的过程。下面我们以植物导管分子细胞分化的过程为例，讨论植物细胞是如何从分生细胞变成高度分化细胞的，以及分化过程中的控制因素。

一般地，植物细胞的分化应该有下述四个事件的顺序发生：①诱导细胞分化信号的产生和感受；②分生细胞特征基因的关闭以及分化细胞特征基因的表达；③形成分化细胞结构和功能的基因表达；④前述基因表达导致的细胞结构和功能上的分化成熟。植物维管细胞的分化过程，较好地反映了上述细胞分化的四步模式。

植物维管束分化的诱导信号，是茎尖分生组织和幼嫩叶片产生的生长素。例如受伤植物维管束的再生复原和组织培养中愈伤组织中维管束的形成就是受生长素诱导的。生长素在维管束薄壁细胞内进行由上而下的极性运输，在植物伤口附近的细胞内积累，诱导附近的皮层薄壁细胞脱分化，恢复分裂，然后分化形成新的维管束组织。需要指出的是，受伤不是诱导细胞分裂分化的必要因素，在完整的茎组织上涂抹生长素也可以诱导皮层细胞进行维管的分化。

在拟南芥中，皮层薄壁细胞接受生长素信号后，诱导同型异源框基因(homeobox gene)*ATHB-8*的表达。已知同型异源框基因是与器官分化密切相关的基因，是分化细胞的特征基因。该类基因编码转录因子蛋白，调节细胞分化所需的下游基因的表达。在植物导管分子细胞分化过程中，已经得到鉴定的这类下游基因有编码蛋白酶的基因和编码核酸酶的基因，这两类基因的产物参与导管分子最后成熟时的细胞自溶过程。

可以看出，在导管分子的分化过程中，表现出典型的四步模式，依次是诱导信号生长素的产生和感受、分化细胞特征基因 *ATHB-8* 的产生、分化所需的功能基因如蛋白酶基因和核酸基因的表达，最终导致细胞自溶形成成熟的导管分子。

## （二）细胞分化与极性

所谓极性（polarity），是指植物器官、组织或细胞在形态结构、生化组成以及生理功能上的不对称性。例如植株整体表现为地上地下两部分不同的形态特征，这是植株个体水平的极性表现；植物插条上端分化不定芽，下端分化不定根，是器官水平的极性表现。但无论是植株水平的极性还是器官水平的极性，其根源都在于构成它们的细胞的极性。细胞极性是细胞内细胞器（包括细胞核）的不均衡分布、质膜表面功能蛋白的不均衡分布、胞内 $Ca^{2+}$ 浓度梯度、pH 梯度的存在等原因造成的。

植物细胞的极性是基因表达控制的，同时也与该细胞在组织内的位置有关。另外，各种环境条件，如光照梯度、温度梯度甚至电势梯度的影响，也会改变细胞极性，影响其分裂方向和分化方向。例如墨角藻（*Fucus*）的大小孢子在海水中结合生成的合子（zygote）最初缺乏细胞壁，完全是一个无极性的球形细胞，但是在由上而下的单向光线的照射下，合子形成后的几个小时之内便形成了以细胞内单向钙离子流为特征的极性（图 11-4），此时改变光线照射方向可以改变细胞极性的方向，但是 10～14 小时后，细胞壁形成，细胞内细胞骨架的固定作用将细胞分为两极：叶极（thallus pole）和根极（rhizoid pole）。随后发生的第一次分裂也是不均等分裂，形成原叶细胞（thallus cell）和根细胞（rhizoid cell）。

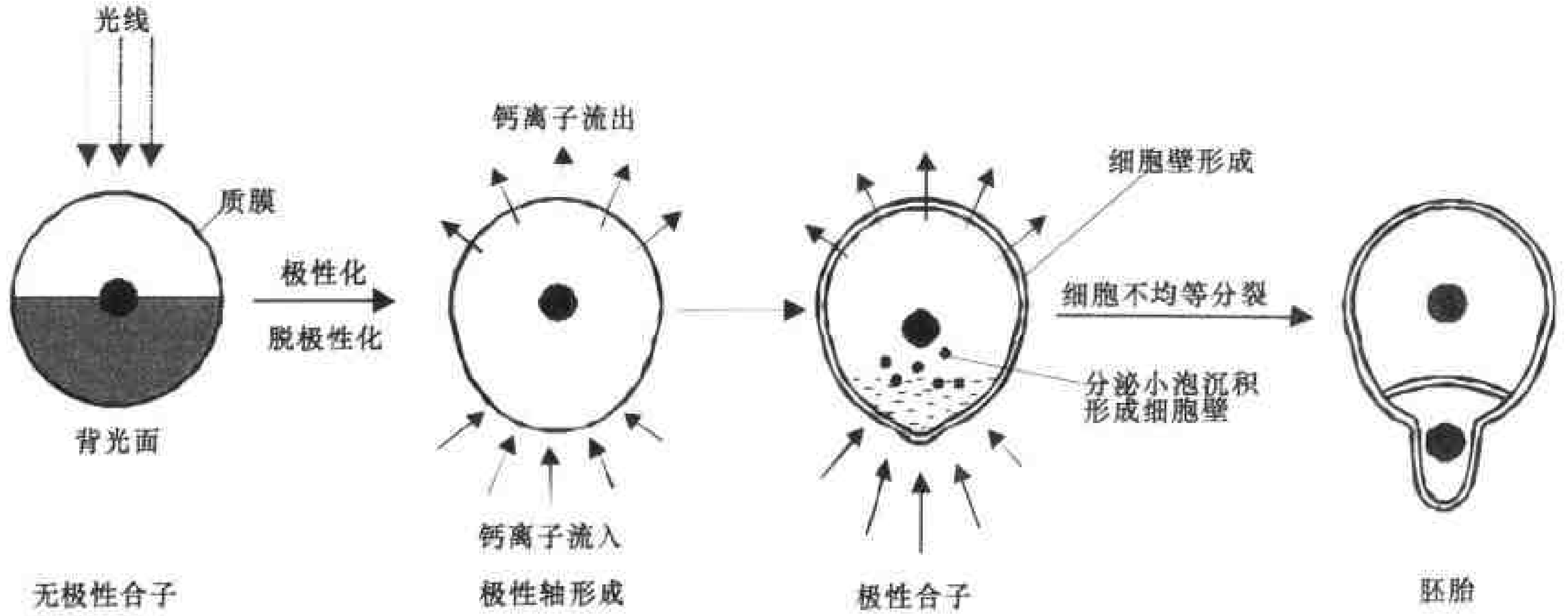



图 11-4　墨角藻极性建成过程示意图（余叔文，汤章城　1998）

可见，细胞极性是细胞不均等分裂的基础，而不均等分裂或称分化分裂，又是植物组织极性结构分化产生的基础。

植物细胞的分裂分为增殖分裂（proliferative division）和分化分裂（formative division）。增殖分裂产生的两个子细胞具有相同的性质；例如愈伤组织中胚性分生细胞数目的增加，种子发育时胚乳细胞数目的增加等，都是由相应细胞的增殖分裂形成的；所谓分化分裂，即细胞分裂产生的两个子细胞在形态或生理生化上具有不同的性质，从而具有不同的发育方向。分化分裂属于不均等分裂（asymmetric division）。

现在普遍认为，分化分裂或不均等分裂是植物极性结构形成的基础，是细胞分化的前提。例如一些最初不具备极性的细胞，如受精卵、大孢子、小孢子等，在后续的分裂中都是不均等分裂。植物的第一次有丝分裂——受精卵的分裂就是一种典型的不均等分裂，产生了植物最早的轴向极性结构，即顶端细胞和基端细胞，前者分化为胚芽、子叶和胚轴，后者分化为胚根和胚柄（参见本章第三节）。小孢子（即花粉粒）的发育情况如图 11-5A 所示，小孢子首先进行一次不均等分裂产生两个细胞，大细胞包含有大部分的小孢子细胞质，形成营养细胞，将来在花粉萌发时形成花粉管；小细胞内的细胞核浓缩，形成生殖细胞（generative cell）。营养细胞内具有 *LAT52* 标志基因表达，而且 *LAT52* 基因的表达局

限在不均等分裂形成的营养细胞之内，生殖细胞内没有 *LAT52* 基因的表达。如果用维管聚合拮抗剂秋水仙素（colchicine）抑制小孢子的有丝分裂，那么整个小孢子将发育为一个营养细胞，并且有 *LAT52* 标志基因表达（图 11-5B）；如果用较低剂量的秋水仙素处理小孢子，可以使小孢子进行均等分裂，结果产生两个等体积的营养细胞，而且两者都有 *LAT52* 标志基因的表达，但是没有生殖细胞的产生（图 11-5C）。可见生殖细胞的分化必须以小孢子的不均等分裂为前提。

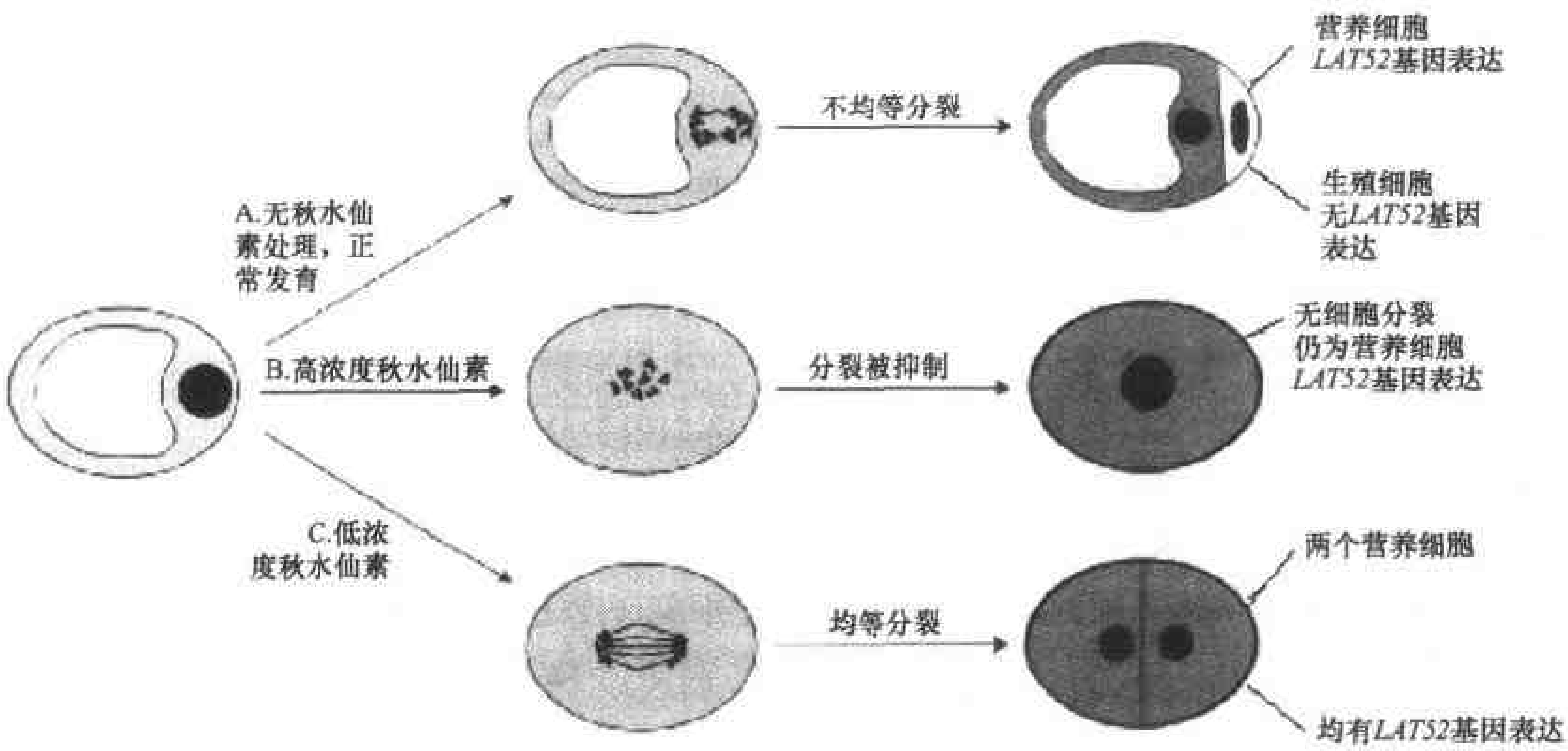



图 11-5　利用秋水仙素干扰花粉母细胞分裂的试验，证明花粉（小孢子）的形成必须经由不均等分裂
（Taiz & Zeiger　1998）

其他不均等分裂影响细胞分化的例子还很多，例如根尖成熟区表皮细胞上根毛的分化就是不均等分裂的产物，该区的表皮细胞经过不均等分裂产生一大一小两个子细胞，体积较小的细胞将来分化为根毛，而体积较大者仍然保留表皮细胞的性质；叶表皮上的保卫细胞的分化以及韧皮部筛管和伴胞的分化都是细胞不均等分裂的结果。

## （三）胞间通讯与位置效应

植物是一个多细胞有机体，细胞之间有紧密的连接，细胞的生理活动必须与周围细胞保持协调的相互关系。正是由于这种相互影响作用的存在，每个细胞在器官和组织中的位置，反过来也影响甚至决定其分化方向和生理功能。这就是常说的细胞分化的位置效应（positional effect）。

细胞之间的协调作用是通过胞间通讯（intercellular communication）进行的。胞间通讯可以通过胞间连丝（plasmodesmata）的共质体形式进行，也可以通过细胞壁空间的质外体形式进行。下面将详细讨论细胞胞间通讯以及位置效应对植物细胞分化的影响。

**1. 细胞间通讯与细胞分化**

胞间连丝是相邻细胞保持物质和信息联系的桥梁，植物的一些重要的发育调节蛋白能通过胞间连丝进行胞间移动。实际上，病毒侵入植物细胞后，就是利用胞间连丝的主动运输机制向邻近细胞传染的。烟草花叶病毒可以编码一种 30kDa 的移动蛋白（movement protein，MP）可以增加胞间连丝的最大通过分子质量，使 MP 携带的病毒基因组通过胞间连丝。

MP 可能在结构上模拟了植物发育调节蛋白，利用胞间连丝的主动运输机制进行感染的。植物蛋白质通过胞间连丝运输还有一个典型的例子。韧皮部筛管中含有大量的蛋白质，但是由于筛管是无

核细胞，不能产生 mRNA 进行蛋白合成，所以这些蛋白质只能由相邻的的伴胞合成，通过胞间连丝运入筛管。

大量的试验证据表明，植物细胞分化过程中，分化调节物质主要通过胞间连丝进行胞间运输。例如在金鱼草(*Antirrhinum*)植物中，*FLO* 基因(一种转录因子基因)只在成花分生组织的 L1 层中表达，但是可以诱导分生组织的其他细胞层内花器官特征基因的表达。这种现象的可能解释是，*FLO* 基因编码的转录因子蛋白通过胞间连丝从 L1 层运输到其他层的分生组织细胞内，诱导这些细胞内花器官特征基因的表达。

这种通过胞间连丝构成的细胞间共质体联系可以随着细胞生长分化的进程发生变化，例如根的分生区和伸长区表皮细胞之间的胞间连丝比较多，但是在成熟区进行根毛分化时，表皮细胞之间的胞间连丝逐渐关闭。等根毛长出之后，表皮细胞之间就完全丧失了共质体联系。

**2. 位置效应与细胞分化**

由茎尖顶端分生组织和根尖分生组织可以分化产生各种植物器官和组织，这种分化过程最早可以追溯到分生细胞形成的组织原细胞(initial cell)。例如根尖分生组织可以产生中柱原细胞、皮层-内皮层原细胞、根冠-表皮原细胞和壳柱原细胞(参见本章第二节)。有假说认为分生组织中的这些组织原细胞是一种决定态的细胞，注定要分化为相应的组织，例如中柱原细胞注定要分化为中柱鞘和维管组织，即由细胞株系血统决定细胞分化方向。组织原细胞产生之后的细胞分裂都是增殖分裂，始终维持该类细胞的分化性质。支持这一假说的证据很多，例如一些组织细胞的特征基因在其组织原细胞中就有表达。

但是有试验证明，细胞所处的位置(即与其他细胞之间的联系情况)在决定细胞分化方向方面，是比细胞株系血统更重要的因素之一。如众所周知的组织培养就是利用了脱离母体环境的植物外植体能够发生脱分化和再分化的性质。不仅体外如此，植物体内的细胞分化方向也决定于其所处的位置。

验证位置效应影响细胞分化方向的典型试验之一是根尖分生组织的激光手术试验。研究者将根尖分生组织内的皮层-内皮层组织原细胞(cortical-endodermal initial cell)用激光束烧融，发现相邻的中柱鞘细胞会发生平周分裂，产生的子细胞会充实到原来皮层细胞和内皮层的位置，进而分化形成皮层和内皮层组织细胞。这个试验说明细胞的决定性是相对的，而且细胞位置的改变会导致其分化方向的改变。

典型试验之二是英格兰常春藤(English ivy)花叶突变体的研究。植物茎尖顶端分生组织原套结构分为三层：由外向内依次是 L1 层、L2 层和 L3 层(参见本章第二节)，在叶原基分化过程中，最外层的 L1 层细胞分化形成叶片的表皮细胞，L2、L3 层细胞分化为叶肉细胞等内部组织。有一种突变体和野生型杂交的英格兰常春藤，其顶端分生组织原套的 L1 和 L3 层是正常细胞，但是 L2 层发生了突变，不能形成叶绿体。因为已知叶片中的光合细胞——叶肉细胞是由 L2 层细胞衍生而来的，所以上述这种常春藤的叶片应该呈白色，但实际上其叶片上有斑斑点点的绿色叶肉细胞存在。研究表明，这些绿色的叶肉细胞是由正常的 L1、L3 层细胞衍生而来的。某些本来要分化为不含叶绿体的表皮细胞的 L1 层细胞，由于偶然的平周分裂进入了 L2 层，结果就分化为具有叶绿体的叶肉细胞。这个例子充分证明了位置效应是决定细胞分化的决定因素。

## 三、植物程序性细胞死亡

植物的衰老(senescence)可以表现为整株水平的衰老，如单次结实性植物的衰老；也可以表现为器官水平的衰老，例如叶片的衰老；也可以是细胞水平的，如导管分子分化。关于植物衰老的详细内容请参见第十七章。这里只讨论植物的一种特殊类型的衰老——程序性细胞死亡(programmed cell death，PCD)。

所谓程序性细胞死亡，就是植物单个细胞内在的衰老程序被激活产生的细胞衰老过程。PCD在动物发育中起着重要的作用，通常是由一些特殊的信号诱导，伴随着一系列特殊基因的表达，导致细胞产生生化和形态上的特征性变化，包括细胞核收缩、核DNA片段化降解等，最终导致细胞死亡。这种动物细胞的PCD过程称作(细胞)凋亡(apoptosis)。植物细胞的PCD过程类似于动物细胞的凋亡过程，例如导管分子细胞在分化的最终阶段发生PCD，细胞核破裂，染色质降解，细胞质消失，导致细胞死亡。又如用病原菌的激发子诱导西红柿细胞发生超敏反应时，表现出与动物细胞凋亡完全一致的现象，这说明植物中也存在着和动物细胞机制相同的PCD。

植物细胞PCD伴随着一些水解酶，如核酸酶、蛋白酶和脂酶基因的表达，这些基因也称为"衰老相关基因"(senescence-associated gene, SAG)。植物SAG还包括ACC合成酶和ACC氧化酶基因。

植物PCD的重要功能之一就是抵御病原微生物的侵染。当植物细胞受到病原微生物的侵染时，会在被感染细胞内产生大量有毒的植保素，并迅速死亡，形成所谓的枯斑(necrotic lesion)，这样可以断绝病原微生物的营养来源，或避免病毒的复制，以防止病原微生物的进一步侵染。这是植物牺牲局部，保护整体的一种防御策略。这种对病原微生物的侵染发生的快速死亡反应也称超敏反应(hypersensitive response)。

研究表明，植物超敏反应产生的细胞死亡并不是单纯地受毒素毒害而产生的"他杀"性死亡，而是植物细胞主动的反应。因为在超敏反应过程中，病原菌侵染释放的信号——激发子启动了一系列的基因表达和生理生化反应，是一种"自杀"行为。

利用拟南芥突变体进行的试验进一步证明了植物超敏反应过程中细胞死亡是基因控制的死亡过程，即PCD过程。即使在没有病原微生物存在的条件下，许多拟南芥的突变体也能产生一系列衰老反应，产生枯斑。如*lsd1*突变体在没有病原菌侵染的情况下，也容易产生难以控制的细胞死亡现象，而且一旦受到病原菌侵染的诱导，就会产生比正常植株细胞更迅速更强烈的衰亡，即所谓的"崩溃性细胞死亡"(runaway cell death)。导致这种突变体细胞易于死亡的直接原因可能是细胞内超氧自由基($O^{2-}$)的过度积累造成的。

# 第三节　植物生长发育概述

## 一、高等植物生长发育的特点

### (一) 植物生长发育与分生组织

植物的形态建成完全依靠植物体内各种分生组织的活动构建而成，这是植物生长发育区别于动物生长发育的一个显著的特点。所谓分生组织(meristem)，是植物体内的一些体积较小、等直径的胚性细胞。营养器官的分生组织具有自我留存(self-perpetuating)的性质，即分生细胞分裂产生植物各种组织和器官的同时，有一部分细胞永远保持胚性状态，只具有分裂能力，而不发生分化。

分生组织内衍生各种组织的原始细胞称为组织原细胞(initial cell)，其性质类似于动物的干细胞(stem cell)，即组织原细胞分裂产生的两个子细胞，一个仍然保留组织原细胞的特性，另一个细胞进入特定的分化进程，经过若干次分裂后开始分化。

根据分生组织的位置、来源和其分化产生的组织类型可以将其分为不同种类。植物的分生组织分为两大类，初生分生组织(primary meristem)和次生分生组织(secondary meristem)，前者是在胚胎发生过程中形成的，后者是在后期生长发育过程中形成的。侧枝和侧根上的顶端分生组织，叶腋的叶腋分生组织，以及禾本科植物茎节和叶片基部的居间分生组织(intercalary meristem)都属于次生分生组织，但是它们在构造和性质上与初生分生组织完全相同。同样也属于次生分生组织的侧生分生组

织(lateral meristem)包括维管形成层(vascular cambium)和表皮形成层(cork cambium),担负着木本植物茎干径向生长的功能。

### (二) 植物生长的有限性和无限性

植物生长发育具有"有限性"(determinate)和"无限性"(indeterminate)的区分。所谓有限性,是指植物的组织器官到一定的阶段和大小时就停止生长发育,然后衰老、死亡。就象绝大多数动物器官的生长发育都是有限的一样,植物的叶片、花、果实等器官也是典型的有限生长器官;而植物根、茎等营养器官的生长具有潜在的无限性,例如千年古树仍然可以繁殖新枝新根,条件许可的话,可能还会无限地生长下去。但是,一旦茎尖分生组织进入生殖生长状态,即分化为花芽之后,就变成了有限生长。

### (三) 植物的一年生和多年生习性

高等植物有单次结实性(monocarpic species)和多次结实性(polycarpic species)之分。前者只开花一次,然后就衰老死亡;后者开花后再进入营养生长,然后再开花,这样的循环重复一次或多次才衰老和死亡。一年生的禾本科植物种子多数是在春天萌发,秋天开花结实,冬季到来时死亡。冬小麦等一年生植物则是在秋天播种,以幼苗的形式在冬雪的覆盖下度过冬天,在来年的春天开始生长,并开花结实。单次结实性的禾本科植物也有多年生的,如竹子可以生长 50 多年,然后才开花死亡。

甜菜、萝卜等是典型的二年生植物,通常在第一个生长季的春天发芽,以莲座状营养体的形式生长,晚秋时分地上部分死亡,只保留地下根和枯叶包裹的茎尖顶芽[称为多年生芽(perennating bud)]。第二年夏天顶芽抽薹(bolting),然后开花结实。

多次结实性植物,也称多年生植物,在每次开花结实时,仍然保留大量的营养枝。例如多年生木本植物只是利用侧芽或腋芽发育成花芽,或者顶芽开花而保留侧芽或腋芽为营养芽。

## 二、植物生长发育的控制

植物是一个高度复杂的多细胞有机体,要保证植物的正常生长发育,各个器官、各个组织以及各个细胞之间必须进行精确的协调和控制。植物生长发育的控制发生在三个层次上:胞内(intracellular)控制、胞间(intercellular)控制和胞外(extracellular)控制,胞内控制大多在基因水平进行,基因通过所编码的各种蛋白来控制细胞生理生化活动;胞间控制的主要角色是植物激素,起着协调不同组织和细胞间的生理活动的作用;而胞外控制是外在的环境因子对植物生长发育的影响。应该指出的是,这三种控制水平的作用并不是相互独立的,几乎在所有的情况下都是相互交叉、相互影响的。例如基因表达水平的改变可以影响细胞内激素浓度以及细胞对激素的敏感性,反过来,许多激素的生理作用又和特定基因表达的诱导和控制有关;环境因子对植物的影响,也必须经过胞间和胞内信号的传递才能实现。所以植物生长发育的各种现象及其调控是上述三种水平的控制因子相互协调、相互作用的结果。

### (一) 发育的基因控制

植物细胞具有全能性(totipotentcy),即生活的植物细胞中含有植物发育所需的所有遗传信息,甚至在高度分化的细胞中,仍然保留着植物的全套基因。不同的基因在不同的生长发育阶段的表达活性或者开闭情况各异,从本质上讲,植物的生长发育就是基因编程顺序表达的结果。随着分子生物学研究的飞速发展,人们对植物生长发育的基因控制已经有了相当的了解。

需要指出的是,发育的基因控制,可以发生在转录水平、转录后水平(即 mRNA 加工水平)、翻译

水平和翻译后水平（即蛋白质加工水平）。其他控制因子，例如激素和环境因子和基因的相互作用，也可能发生在这几个水平上。

### （二）发育的激素控制

烟草髓部组织在体内分化成熟后会变成一个储藏细胞，但是将其分离出来进行人工培养时，根据培养基内细胞分裂素和生长素两种激素水平和比例的不同，可以脱分化形成无结构的愈伤组织，也可以分化不定芽，或分化不定根，最终可以形成一个完整的植株。这说明激素在控制植物生长发育过程中起着关键的调控作用。植物激素作为一种化学信号，介导着细胞与细胞之间、器官与器官之间、环境与植物之间的相互作用，贯穿在整个植物生长发育的全过程中。关于植物激素及其对植物生长发育的调控作用将在第十二章和第十三章中详细讨论。

### （三）发育的环境控制

植物具有和动物相区别的显著特性就是它非移动性的生活习性，这意味着植物随时随地地接受着自然环境变化的影响，而长期的进化使植物具有非凡的环境适应能力。光、温度和重力等因素对植物的生长发育状态会产生显著的影响。其他一些环境因子，例如磁场、声音以及风等环境因素对植物生长发育也会产生微妙的作用。除了上述物理因素之外，环境中还存在着与植物生长发育关系密切的化学因素和生物因素，例如土壤酸碱度、养分状况等。在环境问题日益突出的今天，空气、水和土壤污染对植物生长发育的影响也不能忽视。环境中的微生物、动物乃至人类等生物因素对植物生长发育的影响也非常巨大。

## 三、植物胚胎发育

### （一）胚胎发育与植物生长发育的基本模式

植物生长发育是从子房胚囊内的单细胞受精卵发育为一个多细胞胚胎这个过程开始的，这个过程也称为“胚胎发生”（embryogenesis）。胚胎发生过程是植物最初的也是最基本的一个形态建成过程，同时也奠定了植物生长发育的基本模式。

植物胚胎和动物胚胎不同，前者在胚胎时期并没有形成成年个体的所有器官，仅有植物体最基本的形态和构造，即胚芽、胚根、胚轴和子叶。而所有其他成熟植物体器官都是由胚胎发生之后依靠分生组织分化发育而成的。

那么，植物胚胎发生过程中奠定的植物生长发育的基本模式是什么呢？首先是植物器官的径向构造模式（radial structure pattern）；其次是植物的轴向发育模式（axial developmental pattern）；最后是将来分化发育各种植物器官的初生分生组织（primary meristem）。上述三个基本模式是植物生长发育贯穿始终的特征。

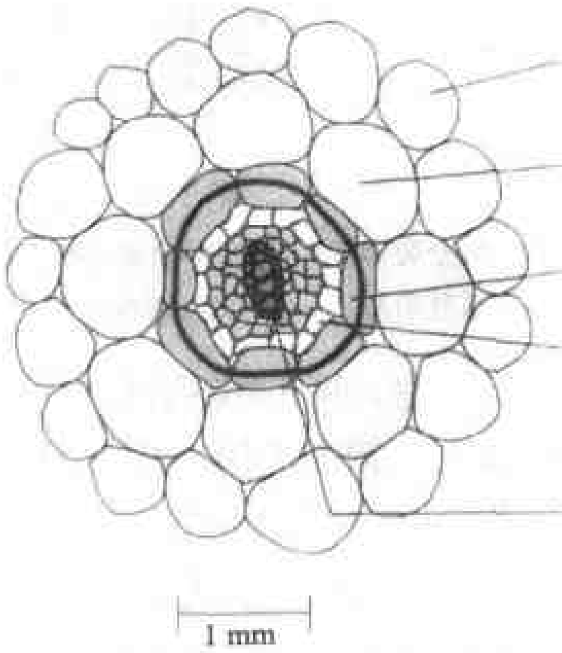



图 11-6　拟南芥根的横切面（距根尖 1mm 左右），示植物器官内组织的径向排列特性
（Taiz & Zeiger　1998）

所谓植物的轴向发育模式是指植物体呈现根茎两极模式，这种形态特点实质上是植物极性构造的表现；而植物器官的径向构造模式可以从根或茎的横截面上看到，图 11-6 表示的是拟南芥根的横截面，各种组织呈现典型的同心圆排列形态，从外向内依次是表皮（epidermis）、皮层（cortex）、内皮层（endodermis）、中柱鞘（pericycle）和中柱（stele）。虽然具体的形态可能随植物品种和部位有所不同，但是绝大部分植物器

官构造都遵循这种径向构造模式。

## （二）胚胎发育的三个阶段

种子形成过程中由受精卵开始的胚胎发生大都发生于胚珠内，但在试验条件下，植物的体细胞也可以分化为胚胎，称为体细胞胚胎发生（somatic embryogenesis）。本节将以拟南芥的胚胎发生为例，介绍胚胎发育的三个典型阶段。

拟南芥胚胎发生的第一阶段为球形胚（globular stage embryo）阶段（图 11-7D），受精卵进行精确的同步分裂形成一个对称的多细胞球；第二阶段为心形胚（heart stage embryo）阶段（图 11-7E，F），在球形胚一端的两侧发生快速的细胞分裂，形成两个对称的子叶原基，构成一个两侧对称的心形胚；第三阶段为鱼雷形胚（torpedo stage embryo）阶段（图 11-7G），胚轴开始伸长，子叶原基进一步发育，形成鱼雷形胚。在许多植物的胚胎发生过程中，鱼雷形胚阶段之后，子叶会进一步生长发育，成为蛋白质、淀粉、脂肪等营养物质的储存器官。

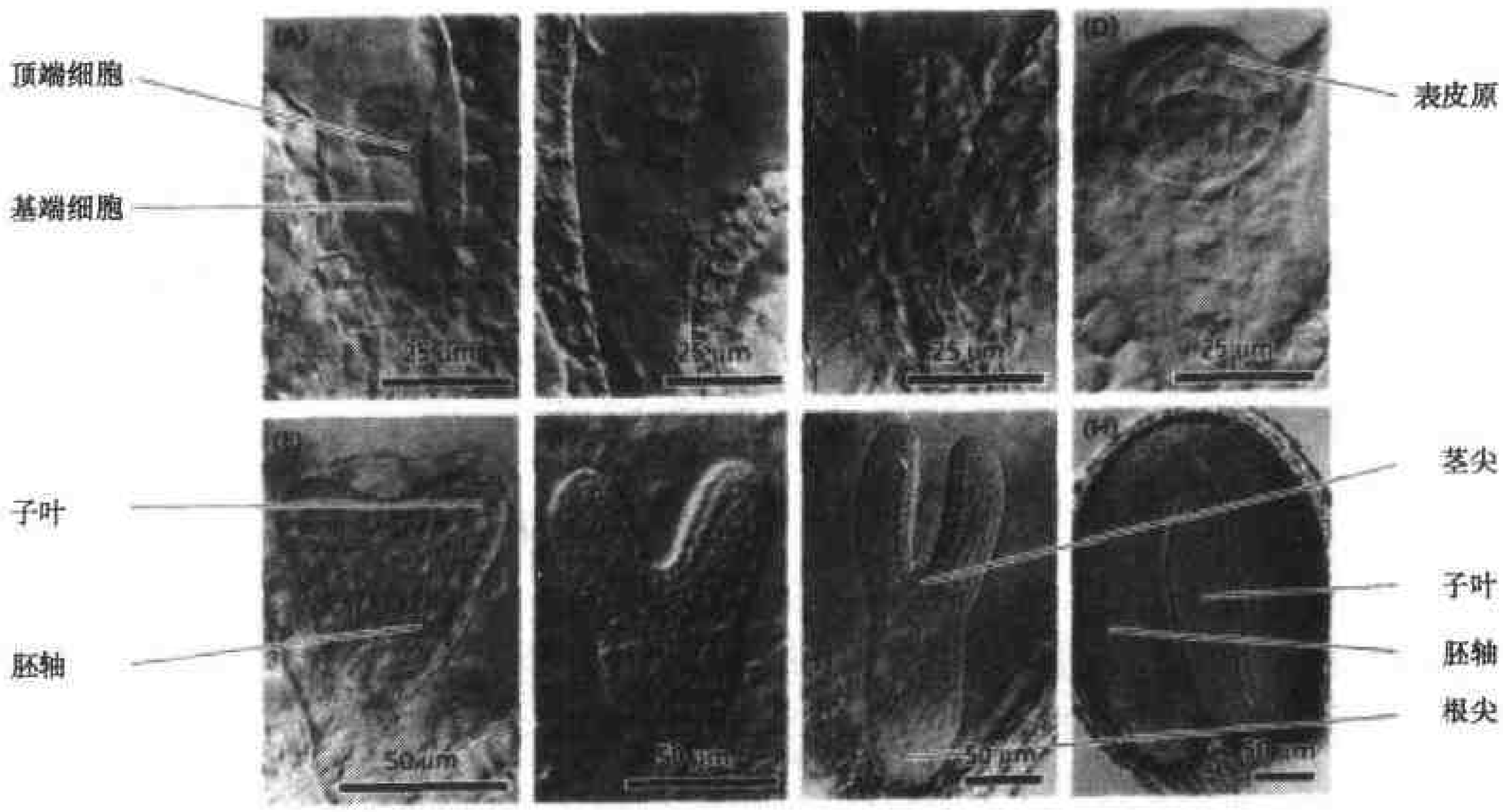



图 11-7　拟南芥的胚胎发生过程（Taiz & Zeiger　1998）

（A）受精卵第一次分裂形成两个细胞-顶端细胞和基端细胞。顶端细胞将来形成胚胎；（B）两个细胞的胚胎；（C）八个细胞的胚胎；（D）球形胚阶段，示表皮原细胞的形成；（E）心形胚阶段早期；（F）心形胚阶段后期；（G）鱼雷胚阶段；（H）成熟胚。

需要指出的是，即使在胚胎发生的球形胚阶段，仍然有顶端和基端细胞的区别。实际上，植物的轴向两极模式在受精卵的第一次分裂时就已经决定了。受精卵的第一次分裂将合子分为一个顶端细胞（apical cell）和一个基端细胞（basal cell）。顶端细胞将来形成胚胎的大部分构造，而基端细胞进行若干次分裂后即开始分化，大部分细胞变成胚柄（suspensor），只有上部的少量细胞成为胚胎的一部分，即胚根原（hypophysis），将来形成胚胎的根尖分生组织。

拟南芥的受精卵形成后 30 个小时内会进行 3 次精确的同步分裂，形成 8 个细胞的球形胚（图 11-7C）。球形胚早期上层细胞和下层细胞开始分化，形成胚胎的顶端和基端两部分，表现出胚胎的轴向极性发育模式。然后下层细胞开始横向分裂，形成径向分布的三个区域，最外面一层细胞是所谓的原表皮层（protoderm）（图 11-7D 和 图 11-8），原表皮层覆盖整个胚，将来形成植物的表皮组织。原表皮层下面是基本分生组织（ground meristem），将来分化为皮层和内皮层组织；最里面的细胞是原形成层（procambium），将来分化为维管组织和中柱鞘。可见胚胎发生的球形胚阶段已经表现出植物的径

向构造模式。

在胚胎的心形胚阶段，胚胎的轴向构造就已经形成，即具有子叶和茎尖分生组织的顶部，未来发育为根及根尖分生组织的基部，以及连接两端的胚轴共三个部分(图 11-8)。

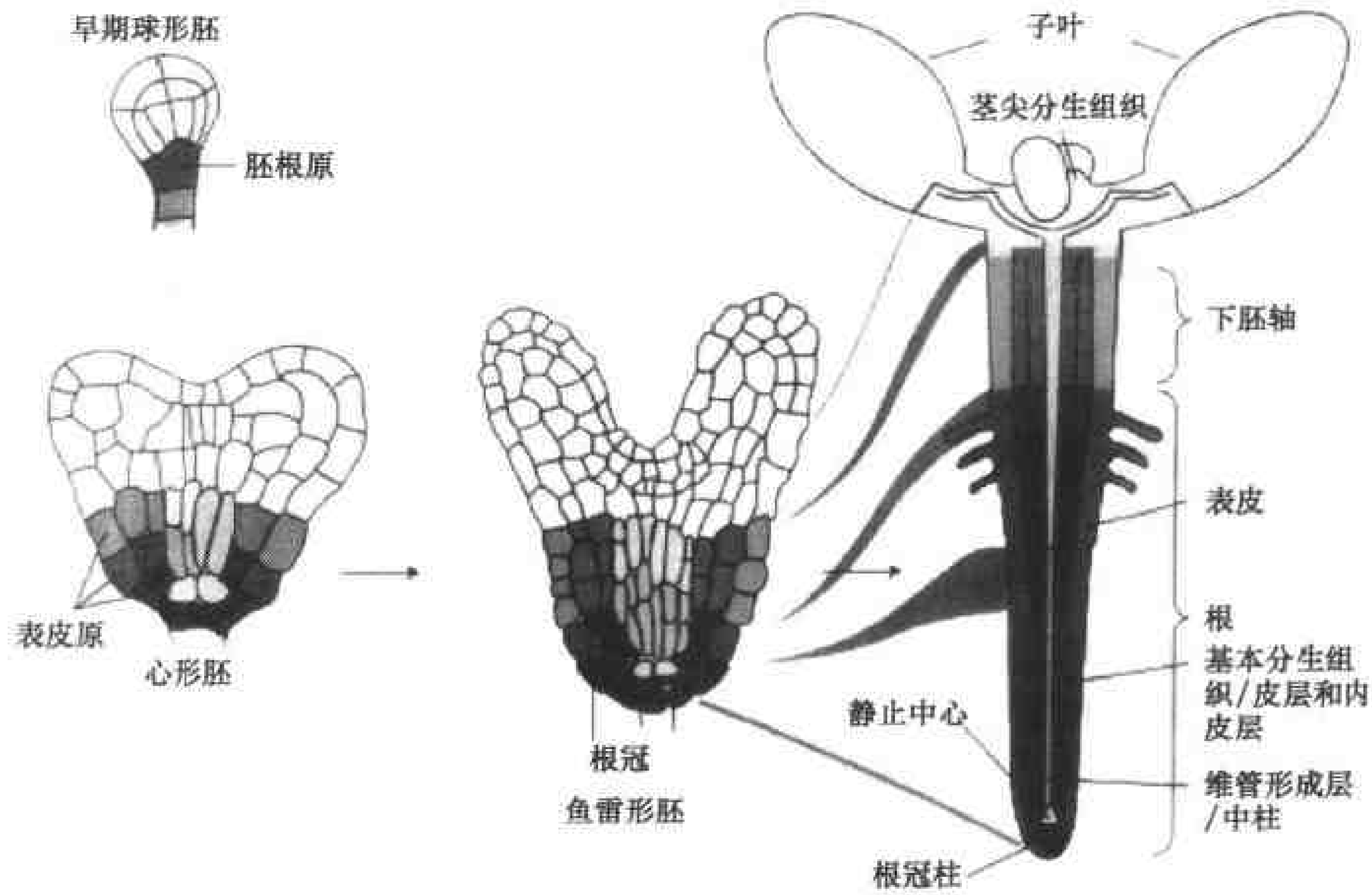



图 11-8　胚胎发生过程中形成了植物的轴向极性构造和径向构造的基本模式

(Taiz & Zeiger　1998)

图示拟南芥胚胎发生过程，鱼雷形胚和幼苗之间的灰色线条表示胚胎与幼苗之间结构上的对应关系。

## (三) 胚胎发生过程中的基因表达

### 1. 胚胎轴向发育模式的建立受基因的控制

通过对拟南芥胚胎发育突变体的研究，发现胚胎顶端-基端轴向发育模式的建立是受特异基因控制的过程。

拟南芥的胚胎发生突变体如图 11-9 所示，根据这些突变体胚胎萌发后生成的幼苗形态分为四种，

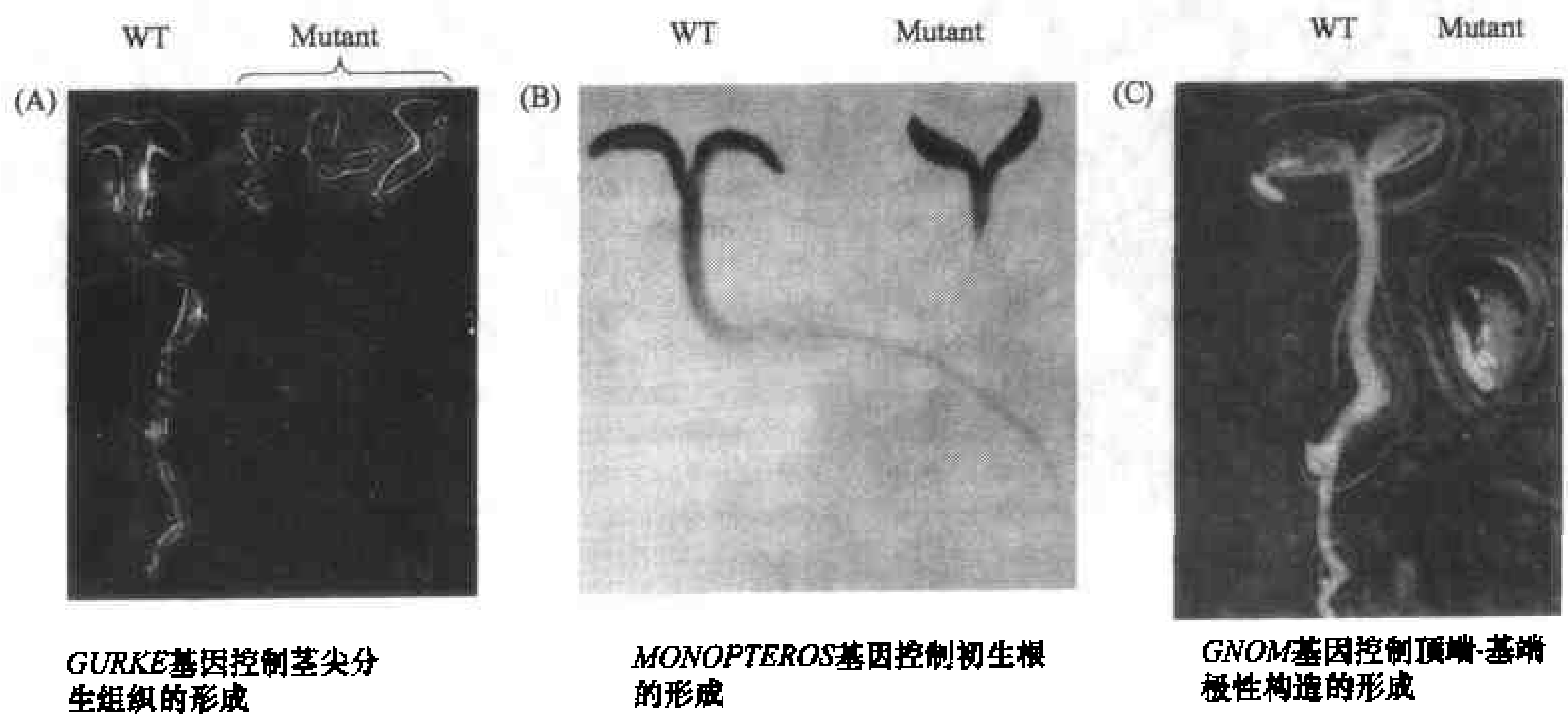



图 11-9　拟南芥的几种胚胎发生突变体(Taiz & Zeiger　1998)

图中 WT 表示野生型；Mutant 表示突变体。

即 *gurke*、*fackel*、*monopteros* 和 *gnom*。

其中 *GURKE* 基因的突变，导致子叶甚至茎尖的缺失，使胚胎的形态像一个小黄瓜；而 *FACKEL* 基因的突变，使胚胎的胚轴丧失，胚胎的茎端和根端直接连在一起；*MONOPTEROS* 基因突变使根和胚轴缺失，只剩下两个大子叶和茎尖；而 *GNOM* 基因的突变，导致根和子叶的丧失，成为一个完全无轴向极性结构的圆球体。

这些突变体说明，正常拟南芥胚胎发生过程中，胚胎轴向发育模式的建立，即胚胎中沿轴向分布的胚芽、子叶、胚轴和胚根的形成，需要 *GURKE*、*MONOPTEROS*、*FACKEL* 和 *GNOM* 诸基因的表达。虽然这些基因影响轴向极性发育模式的形成，但是并不影响细胞分化和一些基本组织的形成。例如 *gnom* 突变体胚胎和幼苗中仍然有沿径向分布的表皮层、基本分生组织和维管束。这些基因有些已经得到克隆，但是它们是如何具体影响胚胎发生的，目前仍然在研究之中。

**2. 胚胎径向结构形成受特异基因的控制**

胚胎发生过程中控制胚根和胚轴径向组织分化的基因在拟南芥、玉米以及其他植物中都得到了鉴定，如拟南芥的 *SHR* 和 *SCR* 基因。其中某些基因和果蝇(*Drosophila*)中控制器官分化位置的同源异型框基因(homeabox genes)比较类似。

拟南芥 *SCR* 基因对维持胚胎发生后的根和茎径向组织分化状态也起着重要作用。拟南芥的 *shortroot* (*shr*)突变体的初生根内缺乏内皮层，而其他部分如表皮层、皮层、中柱鞘和中柱等的分化和

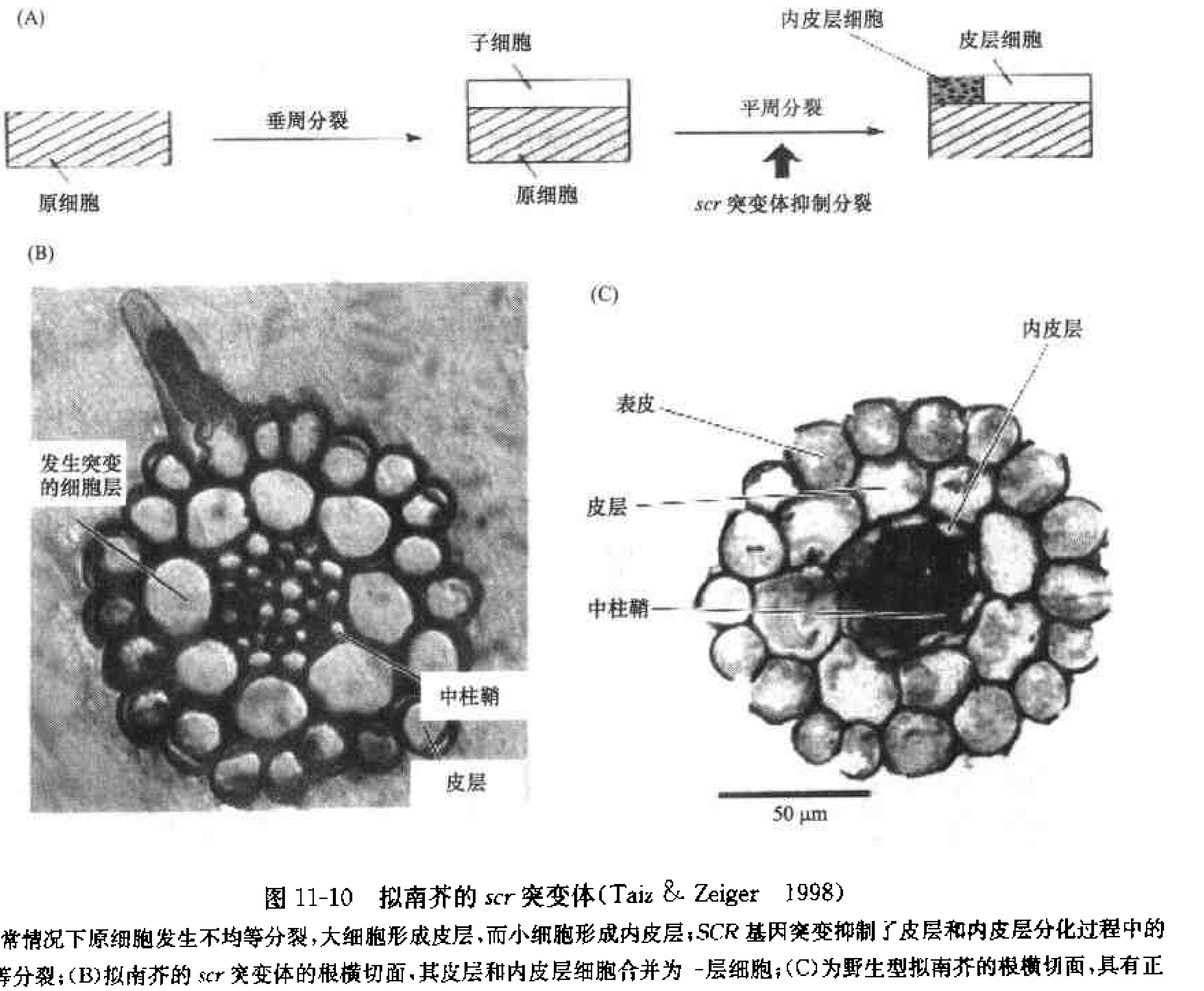



图 11-10 拟南芥的 *scr* 突变体(Taiz & Zeiger 1998)

(A)正常情况下原细胞发生不均等分裂，大细胞形成皮层，而小细胞形成内皮层；*SCR* 基因突变抑制了皮层和内皮层分化过程中的不均等分裂；(B)拟南芥的 *scr* 突变体的根横切面，其皮层和内皮层细胞合并为一层细胞；(C)为野生型拟南芥的根横切面，具有正常的皮层和内皮层。

分布都正常；*scarecrow*（*scr*）突变体与 *shr* 类似，只是 *scr* 的皮层细胞和内皮层细胞混合在一起形成一个细胞层（图 11-10）。这是由于形成皮层细胞和内皮层细胞时基本分生组织细胞的不均等分裂受到了抑制。*SCR* 基因编码的蛋白质就是这个不均等分裂的控制蛋白。植物的细胞或组织类型控制基因大多是转录因子，通过促进或抑制某些基因的表达，来决定一些细胞或组织的分化和功能。

**3. 胚胎顶端原分生组织的形成受基因的控制**

植物初生根和茎的顶端分生组织是在胚胎发生过程中形成的。因为在胚胎期这些分生组织并不活化，所以称为"原分生组织"，在拟南芥中，原分生组织在鱼雷形胚胎期即可以在两个子叶的中间位置观察到。拟南芥的 *SHOOTMERISTEMLESS*（*STM*）基因只在形成茎尖原分生组织的细胞内表达，*STM* 基因发生变异的拟南芥 *stm* 突变体胚胎和幼苗都不能形成茎尖分生组织。*STM* 基因产物的功能可能是抑制细胞分化，维持细胞分裂能力。*STM* 基因在球形胚中期就可以在一个或两个细胞内表达，心形胚期在子叶之间的几个细胞内表达。该基因甚至在成熟植株的茎尖顶端分生组织内也有表达。所以，*STM* 基因是茎尖分生组织细胞的标志性基因。

## 四、种子的萌发

高等植物的生活史是从种子萌发开始到种子成熟为止的循环过程。种子不仅具有植物繁衍新个体的功能，而且也是躲避不利环境的重要手段。因为种子水分含量极低，并且受种皮以及其他抑制因素的限制，其生命活动处于一种相对静止的状态。在环境条件满足植物生长要求的前提下，种子便开始萌发，开始了新一轮的生命旅程。

### （一）种子的结构

植物种子有胚、胚乳和种皮三大部分构成。胚的中央部分是胚轴（embryonic axis），胚轴上有一个或两个子叶（cotyledon），胚轴的上端是胚芽（plumule），将来形成茎和叶片，下端是胚根（radicle），将来形成根系。单子叶（monocot）植物种子的胚只有一个子叶，称作盾片（scutellum），盾片在种子萌发中的功能主要是消化和吸收胚乳营养。而双子叶植物的胚具有两个子叶，起储存养分的功能。

在胚发育过程中，胚的周围包裹着称为胚乳（endosperm）的养分储存组织。大部分单子叶植物的种子在种子成熟后胚乳仍然保留，称为有胚乳种子（endospermic seed）；而大部分双子叶植物的种子在胚胎发育过程中，胚乳被消耗吸收，最终的成熟种子只有胚组织，称为无胚乳种子（nonendospermic seed）。无胚乳种子的子叶担负着养分储存的功能，所以子叶有时能占整个成熟种子体积的 90%。胚乳是由非生活细胞组成的，内含大量的淀粉和少量的蛋白质及脂类。在一些谷类种子如小麦、大麦和燕麦种子中，胚乳被一层厚壁的生活细胞包围着，这层细胞称为糊粉层（aleurone），含有大量的蛋白体，在萌发时受赤霉素的诱导合成大量的水解酶类（参见第十三章）。

包裹在种子外围的是坚硬的种皮，或称外种皮（testa）。种皮是从母体组织衍生而来的，即从包裹子房的珠被（integument）发育而来。种皮一般由厚壁细胞组成，表面覆盖着很厚的蜡质层，起着阻碍水分和氧气进入种子的作用。有些种子种皮中含有萌发抑制物质。

### （二）种子的萌发

在环境条件适合的条件下，种子内的胚胎开始恢复生长，并形成植物幼苗，这个过程就是萌发（germination）。

种子萌发的第一阶段是吸胀（imbibition）。干燥的种子必须吸收足够的水分才能恢复细胞的各种代谢功能。种子吸胀除了依靠表面张力形成的毛细管作用，更主要的还是依靠种子内的细胞壁物质、蛋白质以及其他亲水性物质对水的吸附作用，即所谓的衬质势。种子吸收水分导致内含物体积的

膨胀，形成吸胀压（imbibition pressure），撑破种皮，解除胚的生长压力，使胚恢复生长。

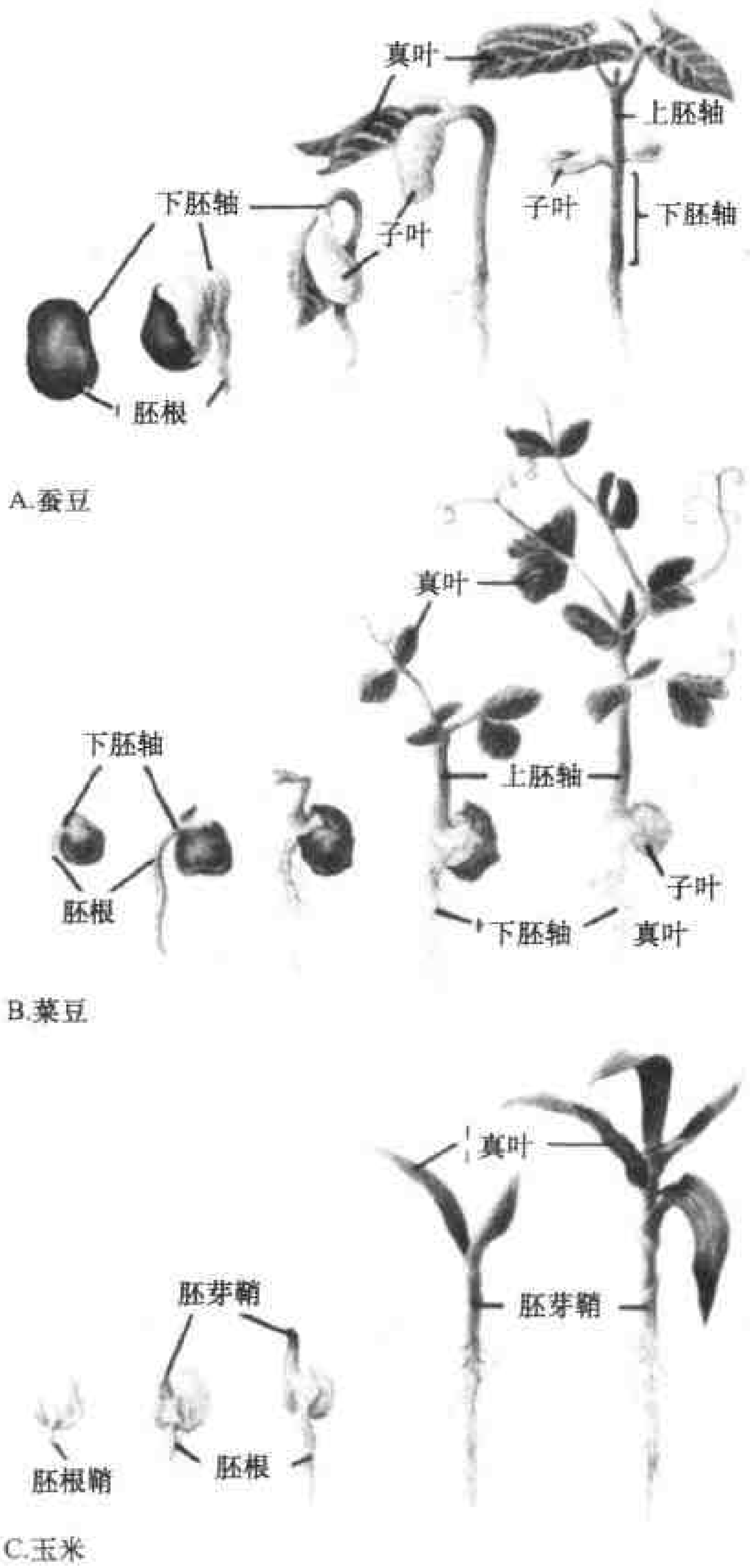



图 11-11 植物种子萌发过程示意图（Hopkins 1995）
A：蚕豆的子叶出土型发芽；B：菜豆的子叶留土型发芽；
C：单子叶植物玉米的发芽。

种子吸胀后引起种子代谢活动的活化。最明显的变化是种子从吸胀早期开始即伴随着呼吸的增加。种子萌发过程中的呼吸途径主要是糖酵解和三羧酸循环，所产生的中间代谢物和 ATP 作为胚细胞分裂和生长的物质与能量供应。磷酸戊糖途径也是种子呼吸的重要途径之一，该途径产生的 NADPH 还原力是细胞脂类合成必需的能量供应物质，而且该途径的中间产物是合成核苷酸以及其他含芳香环物质的重要前体。

种子萌发过程伴随水解酶类的合成和分泌，消化种子内储存的营养物质。谷类种子胚乳中的储藏淀粉的分解反应主要受糊粉层内合成和分泌的 α-淀粉酶和 β-淀粉酶的催化。谷类种子中这两种水解酶类的激素诱导过程在第十三章有详细的叙述。在无胚乳种子中，如豆类种子，早期胚细胞的分裂和生长，尤其是胚根的生长主要是依赖其自身储藏的营养物质进行的，然后才有子叶储藏的营养物质水解，运输到胚根或胚芽处供应进一步发育的需要。

种子萌发过程中，胚细胞开始恢复分裂和生长，形成具备根茎叶形态的植物幼苗。双子叶植物种子萌发过程参见图 11-11A、B。种子萌发包括胚根的生长和胚芽的生长。种子萌发首先是胚根生长，胚根依靠种子的吸胀压力和细胞伸长生长突破种皮，与种子周围的基质接触开始吸收水分和矿质元素，支持幼苗的生长需要。胚根生长开始后，胚芽也开始生长。在双子叶植物中存在着两种类型的生长方式，一种是子叶下胚轴（hypocotyl）伸长，将子叶和子叶包裹的第一片真叶带出土层，这种萌发方式称为子叶出土萌发（epigeal germination）（图 11-11A）；另一种是子叶上胚轴（epicotyl）伸长，将第一片真叶带出土层，而子叶留在土内，这种方式称为子叶留土萌发（hypogeal germiantion）（图 11-11B）。

## 五、根系的生长分化

### （一）根尖的构造

植物根系的生长习性非常适应于土壤环境。植物根呈流线形，生长部分的表面没有任何侧生的附属器官，便于根穿过土壤颗粒缝隙生长。根毛以及侧根都是从停止生长的成熟部位发生的。正是因为根生长区域在结构上的单纯性，没有类似茎尖生长区域上的芽原基和叶原基的干扰，有利于观察和研究根细胞的分裂、生长和分化过程及其分子生物学机制。

根系的生长呈现典型的顶端生长性质。根据根尖各部分的发育状态可以分为4个区域：根冠区(rootcap zone)、分生区(meristematic zone)、伸长区(elongation zone)和成熟区(maturation zone)(图11-12)。除了根冠与其他组织具有明显分界之外，其他三个区域都是相互重叠，难以截然分开的。

根冠是保护根尖分生区的组织，可以分泌大量黏多糖起润滑作用，避免生长过程中受到土壤颗粒的摩擦损伤。根冠细胞来源于根尖分生区下端的根冠原细胞(root cap initial)。根冠前端的细胞在根生长过程中不断脱落，根冠原细胞又不断分裂产生新的根冠细胞进行补充。另外，根冠细胞在根向地性生长过程中起重力感受的作用(参见第十四章)。紧邻根冠细胞是分生区。分生区分裂产生根的所有组织的原细胞，这些原细胞分裂产生的各种组织细胞快速分裂，并进行伸长生长，所以在分生区后形成了伸长区。细胞的分裂和伸长生长停止后，细胞开始分化，进入成熟区。在根尖成熟区内各种组织的分布呈现典型的径向构造模式(图11-12)。

在根尖分生区内，存在着一个特殊的区域，称为"静止中心"(quiescent center)。分生区静止中心的细胞分裂极慢或者基本上不分裂，细胞质致密，在生理和形态上明显区别于周围其他分生细胞(图11-12)。静止中心是根的干细胞群，有试验证实单独分离出来的根尖分生组织静止中心在培养基上可以分化为结构完整的根，而且当其他分生组织细胞受到损伤时，静止中心可以恢复分裂重新形成分生组织。

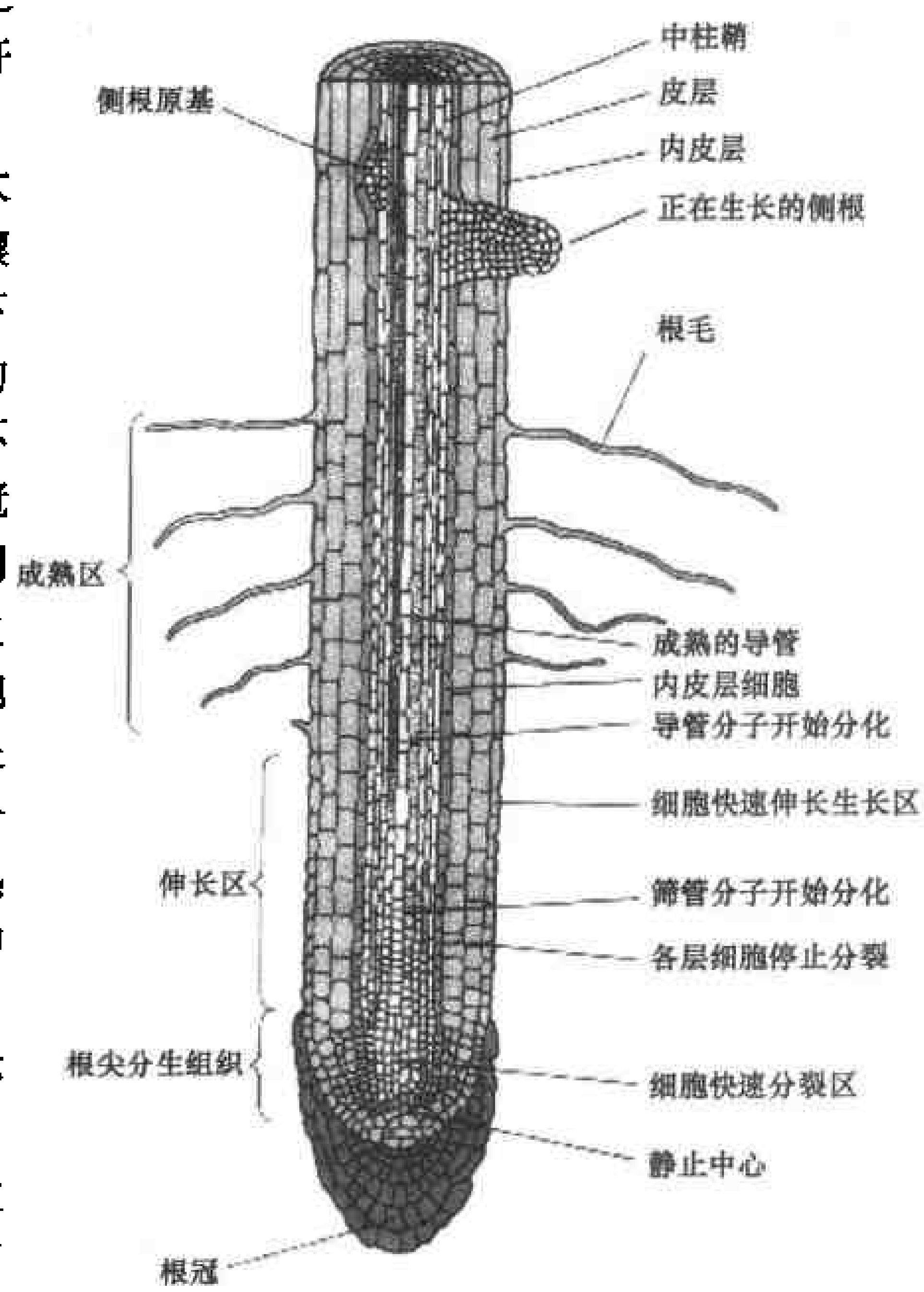



图11-12　植物初生根的构造和生长状态示意图
(Taiz & Zeiger　1998)

## (二) 根尖的分化

从根尖的纵剖面可以看到根尖具有一个显著的结构特征，即结构和类型相同的组织细胞呈条状排列。这些条状排列的组织细胞都来源于根尖分生组织分裂产生的原细胞，每一条组织细胞都与分生区的某一个或几个原细胞相对应(图11-13)。根尖分生组织细胞的分裂和条状组织细胞的分裂都是精确控制的。例如大部分的根尖细胞分裂都是横向的垂周分裂(anticlinal division)，根尖顶端附近少量的细胞是纵向的平周分裂(periclinal division)。根据这些细胞分裂产生的子细胞的发育方向，还可以将根尖的细胞分裂分为两个类型：分化分裂(formative division)和增殖分裂(proliferative division)，分化分裂形成的两个子细胞具有不同的发育方向，一个保留分生细胞的特征，另一个进入分化，形成某种特定组织的细胞，如根尖分生区细胞的分裂即为分化分裂。根尖分生组织细胞的分化分裂特性，在形成对应于各种条状组织的原细胞的同时，保持了分生细胞群的稳定；另一种细胞分裂类型是增殖分裂，所形成的两个子细胞具有相同的发育方向，例如上述各种根组织原细胞经过不断的分裂增加细胞数目，所生成的子细胞是同类型的细胞，最终形成条状组织结构。总之，分化分裂形成条状

组织的基础，即组织原细胞；增殖分裂增加条状组织的细胞数目。分化分裂一般为平周分裂，而增殖分裂一般为垂周分裂。

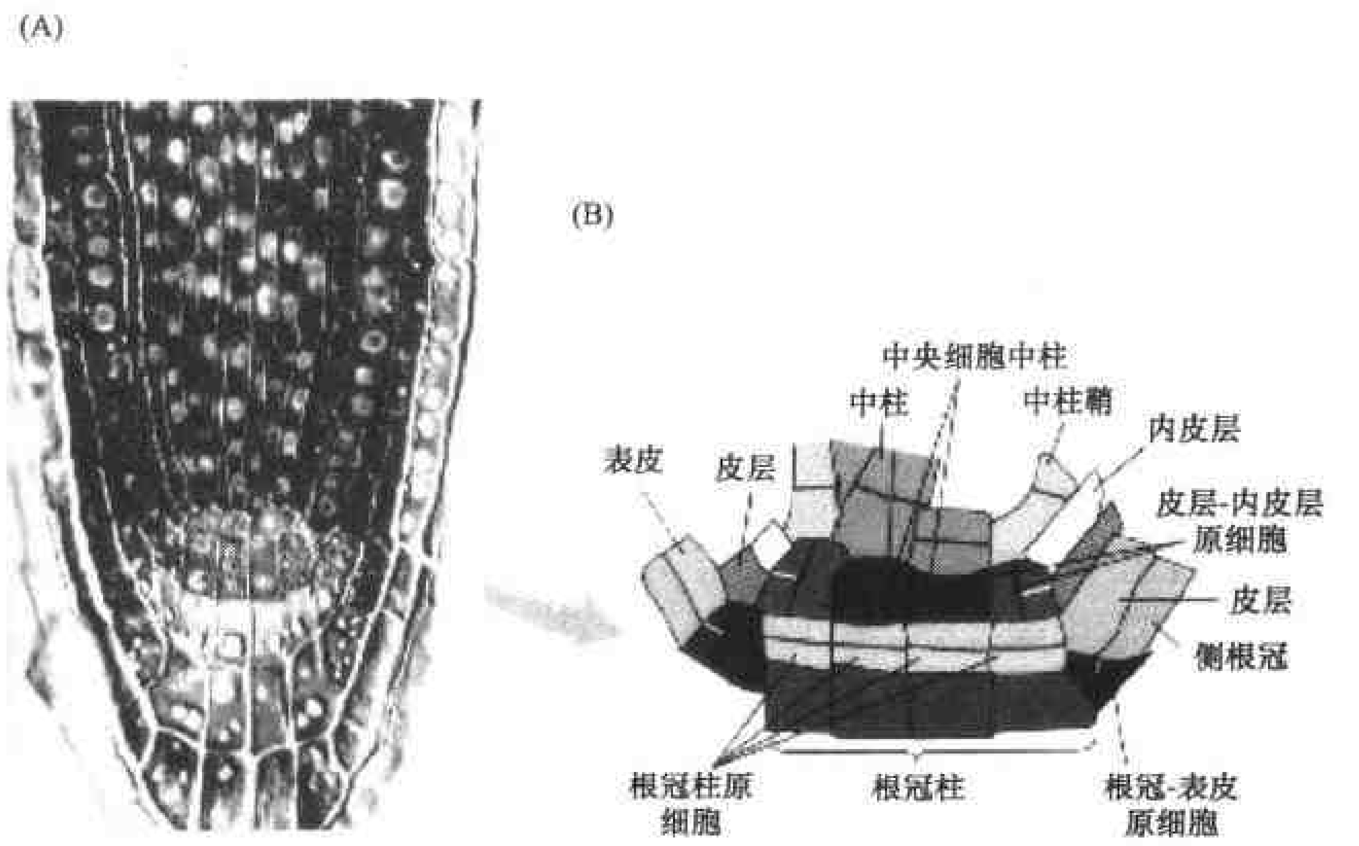



图 11-13 植物根的所有组织均起源于根尖分生组织内的原细胞(Taiz & Zeiger 1998)
(A)拟南芥根尖的纵剖面；(B)拟南芥根尖分生区的示意图。

## （三）根尖分化过程中的基因表达

从上述根尖分生组织分化过程可以看出，不同类型组织细胞的产生起源于细胞垂周的分化分裂。在胚胎发生过程中我们已经讨论过胚根的径向结构的产生，例如内皮层的产生是基因控制的发育过程。在拟南芥的 *shr* 和 *scr* 两种突变体中，根的表皮和中柱鞘之间只有一层细胞，而不像正常植株那样具有两层细胞——皮层和内皮层。*shr* 根内只有皮层细胞，而 *scr* 根内具有皮层细胞和内皮层细胞混合性质的单层细胞。正常拟南芥植株根内的皮层和内皮层是由根尖分生组织上的皮层-内皮层原细胞经过一次垂周的不均等分裂产生的。较大的子细胞形成皮层，较小的子细胞形成内皮层。但在 *scr* 突变体中，没有不均等分裂的发生。

那么，*shr* 和 *scr* 突变体内不能形成内皮层的原因到底是因为细胞分裂受到抑制的缘故呢，还是这些细胞本身缺乏内皮层分化的基因表达呢？有人将上述突变体和 *fass* 突变体(一种比正常植物细胞分裂活性高的突变体)杂交，形成的 *shr*/*fass* 双突变体根内具有多层皮层细胞，但是仍然缺乏内皮层。可见上述突变体中内皮层缺失并不是因为细胞分裂受到抑制，而是内皮层细胞分化必需的 *SHR* 基因发生了突变。而 *scr*/*fass* 双突变体则有内皮层的产生，说明 *SCR* 基因并不是内皮层细胞分化必需的基因，*scr* 突变体缺乏独立内皮层的原因仅仅是因为 *SCR* 基因突变抑制了不均等分裂。所以不均等分裂也是皮层和内皮层细胞分化的必要条件。

# 六、茎的生长分化

## （一）茎尖的构造和分化

植物茎尖的结构和生长分化都比根尖复杂得多。茎尖上产生许多侧生结构，如叶原基、芽原基等，而且随着发育阶段的不同，营养生长状态的茎尖还可以转变为生殖生长状态。茎尖比根尖更易受到环境条件变化的影响，生长状态在一年四季都有所不同，例如春天快速生长而秋天进入休眠。茎尖

的初生生长区域比根尖要广泛得多，有时茎顶端 10～15cm 区间内都有初生生长发生，而根尖的初生生长区域一般只有几个毫米。所以和根尖相比，茎尖的生长分化是一个更为复杂的动态过程。

茎尖顶端分生组织是一个表面平坦或稍有隆起的区域，直径大约在 0.1～0.3mm，构成茎尖顶端分生组织的是较小的薄壁细胞，细胞质致密，缺乏大的中央液泡。

被子植物营养生长期的茎尖顶端分生组织具有明显的层状构造，尤其是表面附近的细胞可以分为两个或多个细胞层。如图 11-14A 所示，顶端分生组织分为原套（tunica）和原体（corpus）两部分。组成原套的细胞从外向内又可以分为 L1、L2 和 L3 三层，在原套各层的细胞分裂都是垂周分裂。原套下面的原体细胞的分裂不像原套细胞那样规则。叶原基、侧芽原基以及花茎上的花器官原基的原细胞都是从原套和原体细胞分裂而来，所以，原套和原体细胞层也称组织形成层（histogenic layer）。

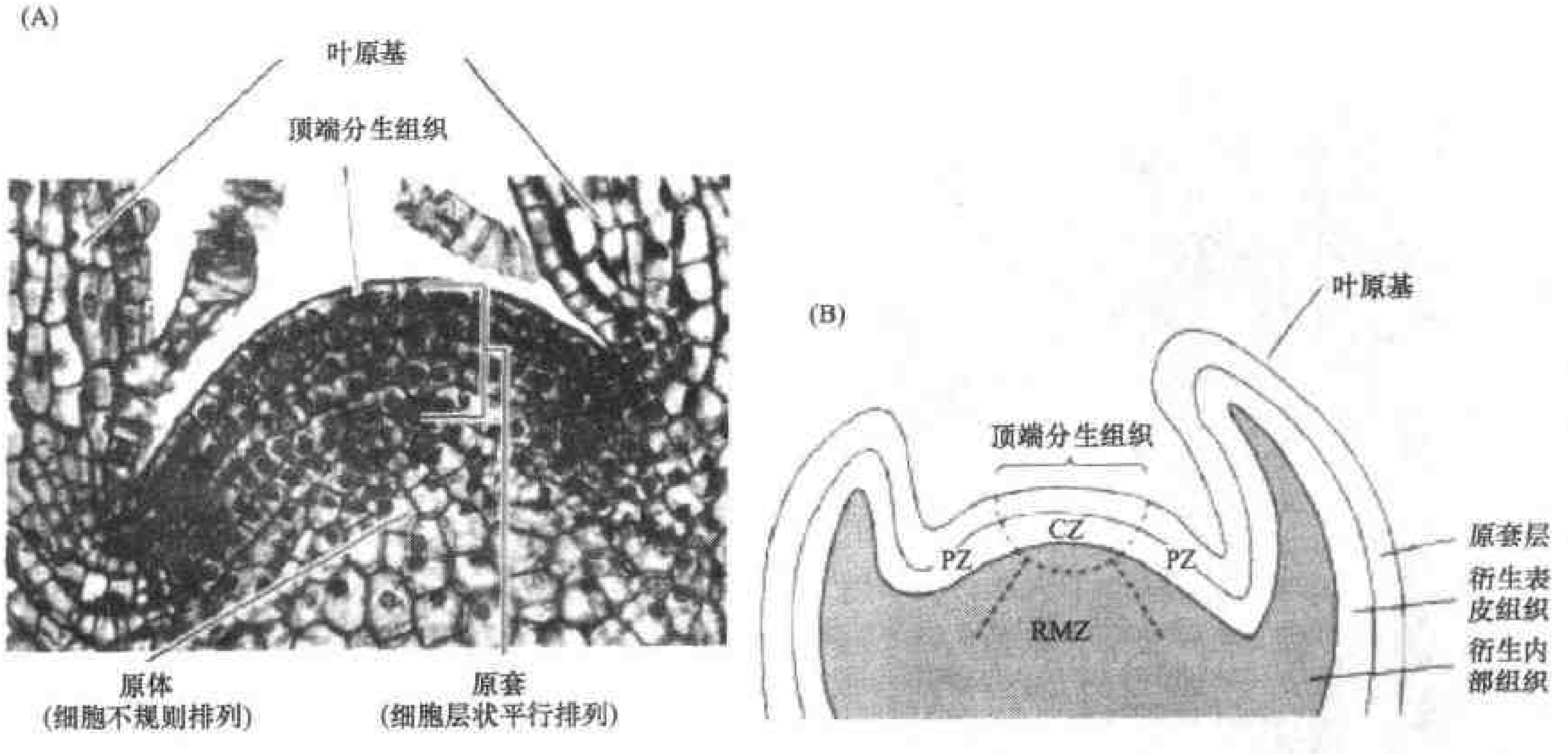



图 11-14　植物茎尖分生组织的构造（Taiz & Zeiger　1998）

（A）锦紫苏（*Coleus blumei*）茎尖纵切面，示茎尖的原体和原套构造；（B）植物茎尖组织的示意图，原套由若干层状排列的细胞组成，该图同时表示了茎尖的组织细胞学分区：细胞快速分裂的周缘区（PZ）；细胞分裂相对缓慢的中央区（CZ），中央区细胞衍生顶端分生组织的原细胞；肋状分生组织（RMZ）衍生植物茎的内部组织。

茎尖顶端分生组织也可以根据细胞的分裂速度、分裂方向、体积大小以及液泡化水平等组织细胞学特性分为若干组织细胞学分区（cytohistological zonation）。顶端分生组织的中央有一团相对较大、液泡化程度较高的细胞称为中央区（central zone）或中央母细胞，其分裂速度相对较慢，相当于根尖分生组织中的静止中心。包围中央区的一圈细胞体积较小、无明显液泡，这个区域称为周缘区（peripheral zone）或周缘分生组织，周缘区分生组织细胞分裂形成叶原基。中央区下面是肋状分生组织（rib meristem），这部分细胞的分裂分化形成茎的内部组织。茎尖顶端分生组织的组织细胞学分区实际上反映了分生组织各部分细胞有丝分裂活性的差异。周缘区细胞分裂比中央区细胞迅速，所以中央区细胞体积较周缘区细胞大。当顶端分生组织进入休眠期后，上述的组织细胞学分区就会消失，但是仍然能够显现原套和原体的层状构造。

茎的分生组织根据其发育来源、所分化形成的器官类型以及是有限性还是无限性等性质分为若干种类。营养分生组织（vegetative meristem）具有无限生长的属性，只要环境条件许可，营养分生组织可以不断地分化产生叶片、腋芽和茎节。

营养分生组织在植物被成花诱导后转化为成花分生组织（floral meristem）。成花分生组织和营养分生组织不同，细胞分裂形成的不是叶原基和芽原基，而是各种花器官原基：萼片、花瓣、雄蕊和雌

蕊。另外，成花分生组织的生长是有限性的，一旦形成花器官后就失去分生组织的活性。但是，许多植物并不是直接将顶端分生组织分化为花器官，而是先形成所谓的花序分生组织(inflorescence meristem)，花序分生组织形成苞叶(bract)，并在苞叶叶腋处形成花芽，这和营养分生组织分化出叶原基和腋芽的情况类似。根据植物种类不同，花序分生组织的生长属性可以是有限的，也可以是无限的。

### (二) 茎尖分化的基因控制

植物顶端分生组织可以分化为叶原基、芽原基、花器官原基等等，那么是什么因素使分生组织中无确定分化方向的"非决定态"(indeterminacy)细胞变为具有确定分化方向的"决定态"(determinacy)细胞呢？大量的试验证据表明，一些属于 *KN1* (knotted 1)类的同源异型域蛋白(homeodomain protein)是维持茎节顶端分生组织细胞非决定态属性的重要因素。同源异型域蛋白是同源异型框基因(homeobox gene)编码的转录因子蛋白，调节与器官分化有关的基因表达。植物的有节突变体(knotted mutation，*kn1*)沿着叶脉生有许多不规则的、肿瘤状的小结，是由于叶脉维管束中的细胞过度分裂形成的(图 11-15)。小结具有分生组织的性质，由不分化的细胞组成，并且持续分裂，但是小结周围的细胞是正常分化的，当小结周围的细胞分化成熟后，小结细胞在它们的包裹下也就停止了分裂。研究发现导致小结细胞异常分裂的原因是 *KN1* 基因的反常表达。将克隆的 *KN1* 基因和特定的启动子结合导入烟草后，会在烟草叶片上形成大量的不定芽原基。

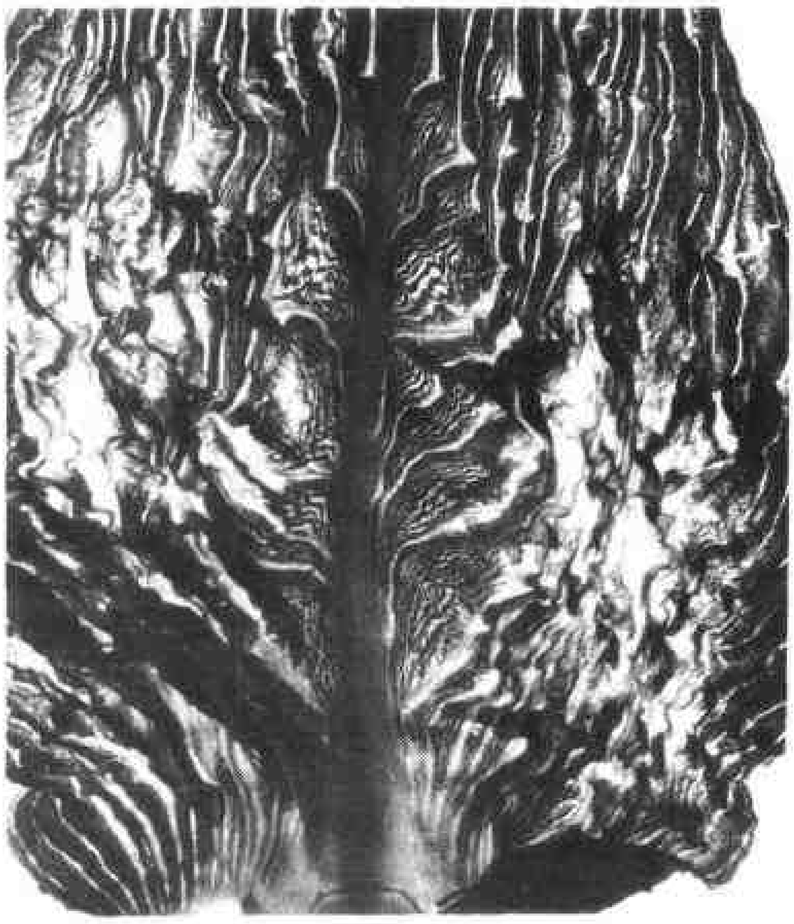


图 11-15 玉米的有节突变体(*kn1*)
(Taiz & Zeiger 1998)
由于 *KN1* 基因在玉米叶片发育过程中异常表达，使在正常发育过程中应该停止分裂的细胞发生不规则的分裂，在叶面产生了粗糙的突起。

拟南芥中也存在着 *KN1* 基因的同源基因——*KNAT1*、*KNAT2* 和 *STM*。其中 *STM*(*SHOOT-MERISTEMLESS*)基因已经在前面讨论过，已知 *STM* 基因是胚胎发生过程中从球形胚中期开始就有的茎顶端分生组织的标志基因，而且它在发芽后的植物茎尖顶端分生组织中也同样表达，但在分生组织细胞分化为叶原基后 *STM* 基因就停止了表达。同样，*STM* 基因在成花分生组织中表达，也是当花器官原基分化后停止表达。*KN1*、*STM* 及其同类基因可能对维持分生细胞的非决定态特性具有决定作用。

## 七、叶的生长分化

### (一) 叶原基的形成及其分化

叶原基是顶端分生组织原套 L1 和 L2 层局部细胞(周缘分生组织区)分裂产生的(图 11-14B)。子细胞经平周分裂，突出表面形成叶原基(leaf primordium)，同时叶原基表层细胞进行垂周分裂增加表面积。

叶原基的形状决定于构成原基细胞的分裂方式，如果大部分细胞是垂周分裂，那么叶原基呈窄而长的形态，如果大部分细胞是平周分裂，那么叶原基呈短而宽的形态。

成熟叶片的形态具有无限的多样性，而且随植物种类的不同而不同。在叶原基形成的初期，长度

在1mm左右时，整个叶片的细胞都具有分裂活性，但是随着叶片的进一步发育，根据植物种类不同，叶片细胞分裂局部或全部停止。单子叶植物和针叶植物叶片的细胞分裂由顶端开始逐渐停止，但叶片基部的细胞仍然维持着长期的分裂能力，在草本单子叶植物内，这部分细胞也是居间分生组织的一种。在上部叶片受到损伤时，如被牲畜采食或机械修剪后，这部分细胞恢复分裂产生新的叶片组织。双子叶植物叶片细胞在成熟之前很早就停止了分裂。例如大豆的初生叶片在达到成熟叶面积的五分之一左右时即停止了细胞分裂，也就是说，叶片的80%的生长量是由既存细胞的扩大生长形成的。幼嫩叶片的细胞比较紧密，随着发育的进行，叶肉细胞比表皮细胞提前停止生长，所以继续生长的表皮细胞将叶肉细胞拉开，形成了叶肉细胞间较大的细胞间隙。

少数植物的叶原基甚至花原基在种子胚胎期就形成了。但是大多数植物，特别是多年生植物的叶原基是在种子萌发后形成的。针叶树和落叶树早春的快速生长大部分归功于上一个生长季形成的叶原基和叶原基之间茎节的扩张生长。叶原基的形成大都发生在夏末，然后作为休眠芽度过干燥和寒冷的冬天，到次年的春天萌发。

### （二）叶序及其基因控制

叶原基的发生并不是随机的，在时间和空间上具有相当的确定性和精确性，并且叶原基发生形态具有种属特异性。叶原基或叶片在茎干上特定的排列状态称为叶序(phyllotaxy)。叶原基的这种定位发生特性表明茎尖顶端分生组织细胞分裂分化在空间上受到精确的控制。但是目前这种控制机制还不清楚，有人认为是既存的叶原基会产生一定的抑制范围影响下一个叶原基的发生。分子生物学研究表明，叶序的产生是受基因控制的。例如金鱼草的轮生花序受两个基因的控制：*FLORICAULA* (*FLO*)基因和 *SQUAMOSA* (*SQUA*)基因。*flo* 突变体在苞叶叶腋处形成营养芽而不是花芽，因为 *FLO* 基因是花芽形成必需的基因；所形成的营养芽上的苞叶却呈螺旋叶序，说明 *FLO* 基因的突变改变了金鱼草轮生叶序的习性，所以 *FLO* 基因也是叶序的控制基因。这些基因控制叶序发生的具体机制尚未阐明。

## 八、植物生长的相关性

高等植物是多细胞有机体，构成植物体的各部分之间存在着相互依赖和相互制约的关系(或称相关性)。在植物的生长发育过程中，不同器官间的相关性是通过植物体内的营养物质和信息物质在各部分之间的相互传递或竞争来实现的。

### (一)植物地上部分与地下部分的相关性

植物的地上部分和地下部分处在不同的环境中，两者之间有维管束的联络，存在着营养物质与信息物质的大量交换。地下部分的活动和生长有赖于地上部分所提供的光合产物、生长素、维生素等，而地上部分的生长和活动则需要地下部分(主要是根系)提供水分、矿质、氮素以及根中合成的植物激素(CTK、GA 和 ABA)、氨基酸等。通常所说的“根深叶茂”、“本固枝荣”就是指地上部分与地下部分的协调关系。一般情况下，植物的根系生长良好，其地上部分的枝叶也较茂盛；同样，地上部分生长良好，也会促进根系的生长。

对于植物地上部分与地下部分的相关性常用根冠比(root-top ratio, R/T)作指标来衡量。所谓根冠比是指植物地下部分与地上部分干重或鲜重的比值，它能反映植物的生长状况，以及环境条件对地上部分与地下部分生长的不同影响。不同物种有不同的根冠比，同一物种在不同的生育期根冠比也有变化。例如，一般植物在开花结实后，同化物多用于繁殖器官，加上根系逐渐衰老，使根冠比降低；而甘薯、甜菜等作物在生育后期，因大量养分向根部传输，贮藏根迅速膨大，根冠比反而增高；多年

生植物的根冠比还有明显的季节变化。

影响植株根冠比的因素较多，主要有土壤水分状况、光照条件、矿质营养供应情况、温度、栽培措施等等。土壤中常有一定含量的可供植株吸收利用的水，所以根系相对不易缺水。而地上部分则依靠根系供给水分，又因枝叶大量蒸腾，所以地上部分容易亏缺。因而土壤水分不足对地上部分的影响比对根系的影响更大，使根冠比增大。反之，若土壤水分过多，氧气含量减少，则不利于根系的活动与生长，使根冠比减少。在一定范围的光照条件下，光强提高则光合产物增多，这对根与冠的生长都有利。但在强光下，空气中相对湿度下降，植株地上部蒸腾增加，组织中水势下降，茎叶的生长易受到抑制，因而使根冠比增大；光照不足时，向下输送的光合产物减少，影响根部生长，而对地上部分的生长相对影响较小，所以根冠比降低。不同营养元素或不同的营养水平对根冠比的影响有所不同。氮素少时，首先满足根的生长，运到冠部的氮素较少，使根冠比增大；氮素充足时，大部分氮素与光合产物用于枝叶生长，供应根部的数量相对较少，根冠比降低。磷、钾肥有调节碳水化合物转化和运输的作用，可促进光合产物向根和贮藏器官的转移，通常能增加根冠比。通常根部的活动与生长所需要的温度较之地上部分所要求的温度低一些，故在气温低的秋末至早春，植物地上部分的生长处于停滞期时，根系仍有生长，根冠比因而加大；但当气温升高，地上部分生长加快时，根冠比就下降。对植株进行修剪与整枝可直接影响植株的根冠比，如去除了部分枝叶和芽，当时效应是增加了根冠比。然而其后效应是减少根冠比，这是因为修剪和整枝刺激了侧芽和侧枝的生长，使大部分光合产物或贮藏物用于新梢生长，削弱了对根系的供应。另一方面，因地上部分减少，留下的叶与芽从根系到得的水分和矿质（特别是氮素）的供应相应地增加，因此地上部分生长要优于地下部分的生长。在作物栽培实践中，中耕与移栽对植株的根冠比也会产生显著影响。中耕可使部分根系受损，使根冠比降低，并暂时抑制了地上部分的生长。但由于根系受损后地上部分对根系的供应相对增加，加之中耕后土壤通气良好，这就为根系生长创造了良好的条件，促进了侧根与新根的生长，因此其后效应是增加根冠比。

在农业生产上，常通过肥水供应来调控根冠比，对甘薯、胡萝卜、甜菜、马铃薯等以收获地下部分为主的作物，在生长前期应注意氮肥和水分的供应，以增加光合面积；中后期则要施用磷、钾肥，并适当控制氮素和水分的供应，以促进光合产物向地下部分的运输和积累。

## （二）主茎与侧枝的相关性

**1. 顶端优势**

植物的顶芽长出主茎，侧芽长出侧枝，通常主茎生长很快，而侧枝或侧芽则生长较慢或潜伏不长。这种由于植物的顶芽生长占优势而抑制侧芽生长的现象称为植物生长的顶端优势（apical dominance）。顶端优势现象普遍存在于植物界，但不同植物的表现不尽相同。有些植物的顶端优势十分明显，如向日葵、玉米、高粱、黄麻等的顶端优势很强，一般不分枝；有些植物的顶端优势较为明显，如雪松、桧柏、水杉等，越靠近顶端的侧枝，生长受抑制越强，从而形成宝塔形树冠；有些植物顶端优势不明显，如柳树以及灌木型植物等。同一植物在不同生育期，其顶端优势也可能会有变化。如稻、麦在分蘖期顶端优势弱，分蘖节上可多次长出分蘖；进入拔节期后，顶端优势增强，主茎上不再长分蘖；玉米顶芽分化成雄穗后，顶端优势减弱，下部几个节间的腋芽开始分化成雌穗；许多树木在幼龄阶段顶端优势明显，树冠呈圆锥形，长成后顶端优势变弱，树冠变为圆形或平顶。

**2. 产生顶端优势的原因**

有多种假说用来解释顶端优势，但一般都认为这与营养物质的供应和内源激素的调控有关。"营养假说"认为，顶芽是一个营养库，在胚中就形成，发育早，输导组织也较发达，能优先获得营养而生长，侧芽则由于养分缺乏而被抑制。这种情况在营养缺乏时表现更为明显。如亚麻植株在缺乏营养时，侧芽生长完全被抑制，而在营养充足时侧芽可以生长。"激素抑制假说"认为，顶端优势是由于生

长素对侧芽的抑制作用而产生的。植物顶端形成的生长素，通过极性运输，下运到侧芽，侧芽对生长素比顶芽敏感，而使生长受抑制。"激素抑制假说"最有力的实验证据是，植物去顶以后，可导致侧芽的生长；使用外源的 IAA 可代替植物顶端的作用而抑制侧芽的生长。另外，施用生长素运输抑制剂或对主茎作环割处理以阻止生长素下运，都能导致处理部位下方的侧芽生长。

另有人提出的"营养转移假说"认为，生长素既能调节生长，又能控制代谢物的定向运转，植物顶端是生长素的合成部位，高浓度 IAA 使其保持为生长活动中心和物质交换中心，将营养物质调运至茎端，因而不利侧芽的生长。许多实验也证明，植物顶端产生的生长素可以决定矿质元素和同化物在植物体内的运输方向及其分布，生长素通过影响同化物在韧皮部的运输来控制植物茎中的营养梯度。但也有实验结果与这一假说相矛盾。例如，从植株去顶到可见的侧芽生长开始之前的这段时间内未测到植株茎节部内源养分含量的增加。

还有人认为，细胞分裂素在顶端优势中有重要作用。用细胞分裂素处理豌豆植株的侧芽可以诱导侧芽生长；比较两种具有不同顶端优势强度的番茄品系发现，顶端优势强的突变种中细胞分裂素含量低；在去顶及除去子叶的豌豆幼苗根部施加放射性苄基嘌呤，发现细胞分裂素在侧芽内的浓度增加，侧芽萌发被促进。这些实验证据都说明细胞分裂素能促进侧芽萌发，解除顶端优势。已知生长素可影响植物体内细胞分裂素的含量与分布。通常顶芽中含有高浓度的生长素，其一方面可促使由根部合成的细胞分裂素更多地运向顶端；另一方面，影响侧芽中细胞分裂素的代谢或转变，从而抑制侧芽萌发。如果切除顶端，消除高浓度 IAA 源，侧芽中由根部运来和本身合成的细胞分裂素增多，其结果会促进侧芽萌发和生长。也有人认为，生长素与细胞分裂素的浓度比值决定了顶端优势的强弱。由根合成而向上运输的细胞分裂素在侧芽部位与生长素对抗，细胞分裂素与生长素的比值高时促进侧芽生长，反之，抑制侧芽生长。

20 世纪 80 年代末期又有人提出"原发优势假说"来解释顶端优势。该假说认为器官发育的先后顺序可以决定各器官间的优势顺序，即先发育的器官的生长可以抑制后发育器官的生长。顶端合成并且向外运出的生长素可以抑制侧芽中生长素的运出，从而抑制其生长。由于这一假说中所提到的优势是通过不同器官所产生的生长素之间的相互作用来实现的，所以也称为生长素的自动控制假说。

植物顶端优势的研究已有近 100 年的历史了，其间提出了多种假说，众说不一，但有一点是共同的，即都认为顶端是信号源。通常认为产生顶端优势的信号源是由顶端产生并极性向下运输的生长素，它直接或间接地调节着其他激素、营养物质的合成、运输与分配，从而促进顶端生长而抑制侧芽的生长。而细胞分裂素等其他植物激素、营养物质以及 $Ca^{2+}$ 浓度等也影响着顶端浓度，因此顶端优势可能是多种因子综合影响的结果。

**3. 顶端优势的应用**

生产上有时需要利用和保持顶端优势，如麻类、向日葵、烟草、玉米、高粱等作物以及用材树木，需抑制其侧枝生长，而使主茎强壮，挺直。有时则需消除顶端优势，以促进分枝生长。如水肥充足，植株生长健壮，则有利于侧芽发枝、分蘖成穗；花打顶和整枝、瓜类摘蔓、果树修剪等可调节营养生长，合理分配养分；花卉打顶去蕾，可控制花的数量和大小；茶树栽培中弯下主枝可长出更多侧枝，从面增加茶叶产量；绿篱修剪可促进侧芽生长，而形成密集灌丛状；苗木移栽时的伤根或断根，则可促进侧根生长；等等。

## （三）营养生长与生殖生长的相关性

营养生长和生殖生长是植物生长周期中的两个不同阶段，通常以花芽分化作为生殖生开始标志。

种子植物的生殖生长可分为开花和结实两个阶段。根据开花结实次数的不同，可以把植物分为两大类：一次开花植物和多次开花植物。一次开花植物的特点是营养生长在前，生殖生长在后，一生

只开一次生。开花后，营养器官所合成的有机物，主要向生殖器官转移，营养器官逐渐停止生长，随后衰老死亡。水稻、小麦、玉米、高粱、向日葵、竹子等植物均属此类。然而，有些一次开花植物在条件适宜时，开花结实后并不引起全部营养体的死亡。如南方的再生稻，在早稻收割，稻茬上再生出的分蘖仍能开花结实。多次开花植物如棉花、番茄、大豆、四季豆、瓜类以及多年生果树等，这类植物的特点是营养生长与生殖生长有年重叠。生殖器官的出现并不会马上引起营养器官的衰竭，在开花结实的同时，营养器官还可继续生长。不过通常在盛花期以后，营养生长速率降低。

无论是一次开花植物，还是多次开花植物，营养生长和生殖生长并不是截然分开的。例如小麦、水稻等禾谷类作用，从萌发到分蘖是营养生长，从拔节前到开花是营养生长与生殖生长并进时期，而从开花到成熟是生殖生长；棉花从萌芽到现蕾是营养生长，从现蕾到结铃吐絮则一直处于营养生长和生殖生长并进阶段；多年生木本果树从种子萌发或嫁接成活到花芽分化之前为营养生长期，此后即进入营养生长和生殖生长并进阶段，而且可持续很多年。

营养生长与生殖生长的关系主要表现在以下两方面。

(1)依赖关系　生殖生长需要以营养生长为基础。花芽必须在一定的营养生长的基础上才分化。生殖器官生长所需的养料，大部分是由营养器官供应的，营养器官生长不好，生殖器官的发育自然也不会好。

(2)对立关系　如营养生长与生殖生长之间不协调，则造成对立。主要有两方面的表现：①营养器官生长过旺，会影响到生殖器官的形成和发育。例如，稻、麦若前期肥水过多，则引起茎叶徒长，延缓幼穗分化，增加空瘪率，若后期肥水过多，则造成恋青迟熟，影响粒重；大豆、果树、棉花等，如枝叶徒长，往往不能正常开花结实，或者导致花、荚、果严重脱落。②生殖生长抑制营养生长。一次开花植物开花后，营养生长基本结束；多次开花植物虽然营养生长和生殖生长关存，但在生殖生长期间，营养生长明显减弱。由于开花结果过多而影响营养生长的现象在生产上经常遇到，例如果树上的大小年，又如某些种类的竹林在大量开花结实后会衰老死亡，这在肥水不足的条件下更为突出。生殖器官生长抑制营养器官生长的主要原因，可能是由于花、果是当时的生长中心，对营养物质的竞争力大的缘故。

在协调营养生长和生殖生关系方面，生产上积累了很多经验。例如，加强肥水管理，既可防止营养器官的早衰，又可不使营养器官生长过旺；在果树生产中，适当疏花、疏果以使营养上收支平衡，并有积余，以便年年丰产，消除大小年。对于以营养器官为收获物的植物，如茶树、桑树、麻类及叶菜类，则可能过供应充足的水分，增施氮肥、摘除花芽等措施来促进营养器官的生长，而抑制生殖器官的生长。

## (四)植物的极性与再生

植物体的极性在受精卵中已形成，并延续给植株。当胚长成新植物体时，仍然明显地表现出极性。例如，将柳树枝条悬挂在潮湿的空气中，枝条基部切口附近的一些细胞可能由于受生长素和营养物质的刺激而恢复分生能力，形成愈伤组织，并分化出不定根。这种在伤口再生根的现象与枝条的极性密切相关。无论柳树枝条如何挂法，其形态学上端总是长芽，而形态学下端则总是长根，即使上下倒置，这种极性现象也不会改变；根的切段在再生植株上也有极性，通常是在近根尖的一端形成根，而在近茎端形成芽；叶片在再生时也表现出极性。不同器官的极性强不同，一般来说，茎＞根＞叶。

极性产生的原因一般认为与生长素的极性运输有关。由于生长素在茎中的根性运输而使形态学下端 IAA/CTK 的比值较大，从而促进下端发根，上端发芽。另外，由于不同器官 IAA 的极性运输强弱不同，如茎＞根＞叶，因此不同器官的极性强弱也存在差异。植物的极性现象在生产上早就受到了人们的注意。在扦插、嫁接以及组织培养时，都需将其形态学的下端向下，上端朝上，避免倒置。

# 小　　结

植物的生长是植物在体积、重量、数目等形态指标方面量的变化，植物分化是指植物细胞在结构、功能和生理生化性质方面发生的的质的变化，发育则是植物生长和分化的总和，是植物生长分化的动态过程。

植物的生长过程包括细胞的分裂和扩大，可以用细胞数目、体积、干重和鲜重等指标进行测量，还可以用生长轨迹曲线、生长速率曲线以及相对生长速率曲线来进行植物的生长分析。

植物分生组织的细胞分裂遵循从 $G_1$ 期、S 期、$G_2$ 期到 M 期的细胞周期。植物细胞的分化过程遵循四步模式：分化诱导信号的感受、分生细胞特征基因的关闭和分化细胞特征基因的表达、形成分化细胞必须的功能基因的表达、分化细胞结构和功能上的成熟。

植物细胞的分化受细胞极性和位置效应的影响。极性是细胞不均等分裂的基础，而细胞不均等分裂又是细胞分化的基础；细胞分化位置效应的本质是植物细胞间的相互影响，细胞位置的变化会导致其分化方向的变化。细胞分化的终点是死亡，植物细胞的程序性死亡是植物内在的衰老程序激活导致的细胞衰老的主动过程，在植物发育和抗逆反应中具有重要的意义。

植物的形态建成完全依赖于植物体内各种分生组织的活动构建而成，植物器官和组织的生长发育具有有限性和无限性之分，植物的个体发育具有一年生和多年生的不同习性。

植物生长发育的控制发生在三个层次上：胞内控制、胞间控制和胞外控制，胞内控制大多在基因水平进行的，基因通过所编码的各种蛋白来控制细胞生理生化活动。胞间控制的主要角色是植物激素，起着协调不同组织和细胞间的生理活动的作用；而胞外控制是外在的环境因子对植物生长发育的影响。应该指出的是，这三种控制水平的作用并不是相互独立的，几乎在所有的情况下都是相互交叉、相互影响的。

植物发育是从胚胎发生开始的，典型的胚胎发育经历球形胚、心形胚和鱼雷形胚三个阶段。胚胎构成了植物体的基本轮廓，建立了植物生长发育的基本模式：轴向极性发育模式、径向构造模式和初生分生组织；而且植物胚胎发育过程中这三种模式的建立都受相应基因的控制。

高等植物的生活史从种子萌发开始，到种子成熟为止。植物种子由胚、胚乳和种皮构成，在适宜的环境条件诱导下开始萌发，经过吸胀、储藏物质代谢、胚细胞恢复分裂和生长，最后形成具备根茎叶形态的的植物幼苗。土壤内的双子叶植物种子萌发有子叶出土萌发和子叶留土萌发两种形式。

植物营养体的生长分化是典型的顶端生长模式，由根尖生长分化和茎尖生长分化两部分构成。根据根尖的发育状态可将其分为 4 个区域：根冠区、分生区、伸长区和成熟区，根尖分生区内的静止中心是根的干细胞群。根尖内结构和类型相同的组织细胞呈条状排列，不同类型的细胞又分别来源于根尖分生组织分裂产生的相应的原细胞。根尖的细胞分裂分为两个类型：分化分裂和增殖分裂，前者形成各组织原细胞，后者形成根尖中的条状组织。

被子植物营养生长期的茎尖顶端分生组织分为原套和原体两部分，还可以根据组织细胞学特性分为中央区、周缘区和肋状分生组织。中央区是茎尖分生组织的母细胞群，周缘区分生组织分裂形成叶、芽和花原基，而肋状分生组织分裂分化形成茎的内部组织。

叶原基是顶端分生组织原套 L1 和 L2 层局部细胞（周缘分生组织区）分裂产生的，叶原基的形状以及叶片的形状都决定于构成原基细胞的分裂方式，并且具有种属特异性。叶序状态也是由基因控制的。

**思考题**

(1) 植物与动物生长发育特点的主要区别是什么？

(2) 简述植物生长、分化和发育的概念。

(3) 何谓植物细胞周期?

(4) 植物细胞分化的四步模式是什么? 举例说明。

(5) 什么是极性? 为什么说极性是植物细胞分化的基础? 举两例加以说明。

(6) 什么是位置效应? 试举例说明。

(7) 植物胚胎发育的三个阶段是什么?

(8) 植物胚胎发育过程中建立的三个植物生长发育的基本模式是什么?

(9) 简单勾画出典型植物根尖分生组织的解剖构造。

(10) 简单勾画出典型植物茎尖分生组织的解剖构造。

# 第十二章　植物生长物质

植物是一个多细胞组成的复杂有机体，要维持正常协调的生长发育状态、适应外界环境，各细胞、组织和器官之间必须进行及时有效的信息交流。担负这种信息交流任务的化学信使之一就是植物激素(plant hormone)。因此，植物激素及其作用机制是植物生理学研究的核心领域。本章首先介绍植物生长物质的概念，然后介绍传统的5大类植物激素——生长素(auxin)、细胞分裂素(cytokinin)、赤霉素(gibberellin)、脱落酸(abscisic acid)、乙烯(ethylene)的主要生理功能；最后简要地介绍一类新的植物激素——油菜素内酯(brasinosteroloid)以及其他植物生长物质。有关植物激素的作用机理将在下一章中介绍。

## 第一节　植物生长物质的概念

植物生长物质(plant growth substance)是指一些小分子化合物，它们在极低的浓度下便可以显著地影响植物的生长发育等生理功能，包括天然存在的植物内源激素和人工合成的植物生长调节剂。

植物激素的发现可追溯到1758年，德国植物学家Duhamel Du Monceau发现，如果对木本植物的茎进行环割处理，环割伤口的上端树皮会膨大并有许多新根发生。为了解释这些现象，1860年，Julius Sachs提出了一种假说，认为植物体内存在着特异的器官形成素(organ-forming substances)。例如，"根形成素"在叶片中形成，并沿着茎干向下运输，最后聚集在环割伤口处，刺激新根的发生。这里假设的器官形成素就是某种意义上的植物激素。但是，发现第一个植物激素——生长素的试验是由查尔斯·达尔文(Charles Darwin)进行的。

达尔文发现燕麦胚芽鞘和植物的茎一样，存在着向光性弯曲生长。进一步的观察表明，胚芽鞘在顶端被切除或者被遮挡的情况下不发生向光性弯曲生长，同时胚芽鞘的向光性弯曲生长是发生在顶端以下的整体性生长(图12-1)。根据以上事实，他推论只有胚芽鞘顶端可以接受单侧光信号，并且产生一种可以向下传导的信号物质，导致胚芽鞘的向光性弯曲生长。

在达尔文之后，数位科学工作者验证并发展了胚芽鞘向光性生长的试验。1910年，Boysen Jensen证明胚芽鞘顶端产生的信号可以透过琼脂块传递，证明了这种信号是一种化学物质；1918年，Paal观察到，如果把切下的胚芽鞘顶端偏向一侧放置，在黑暗条件下也会导致胚芽鞘的弯曲生长(图12-1)。通过这些试验，他们认为胚芽鞘顶端产生了一种化学物质，刺激胚芽鞘背光面的组织生长快于向光面的组织生长，这种不均衡的生长就导致了胚芽鞘的向光弯曲现象。这种化学物质被命名为植物激素(phytohormone)。植物激素的发现是植物生理学发展的一个里程碑。根据美国植物生长物质学会命名委员会的定义，植物激素是植物内源产生的有机化合物，在极低浓度的条件下，对植物的生理过程发生显著的影响。另外，最早定义激素的Starling认为激素还应该满足以下三个条件：①激素应该在特定的器官或组织内合成；②激素通过运输系统运输到特定的靶组织(target tissue)；③激素诱导产生的生理调节作用的强度与其浓度相关。

目前比较广泛使用的"植物生长物质"(plant growth substance)一词，其含义比"植物激素"更为广泛，它不仅包括目前已经得到确认的各类植物激素，也包括那些虽然对植物生长发育具有重要调节作用，但是尚未被认定是激素的内源物质，还包括人工合成的植物生长调节剂(plant growth regulator)，即那些在农业和园艺生产中使用的一些化合物，这些化合物在微量使用的情况下，对植物生理过

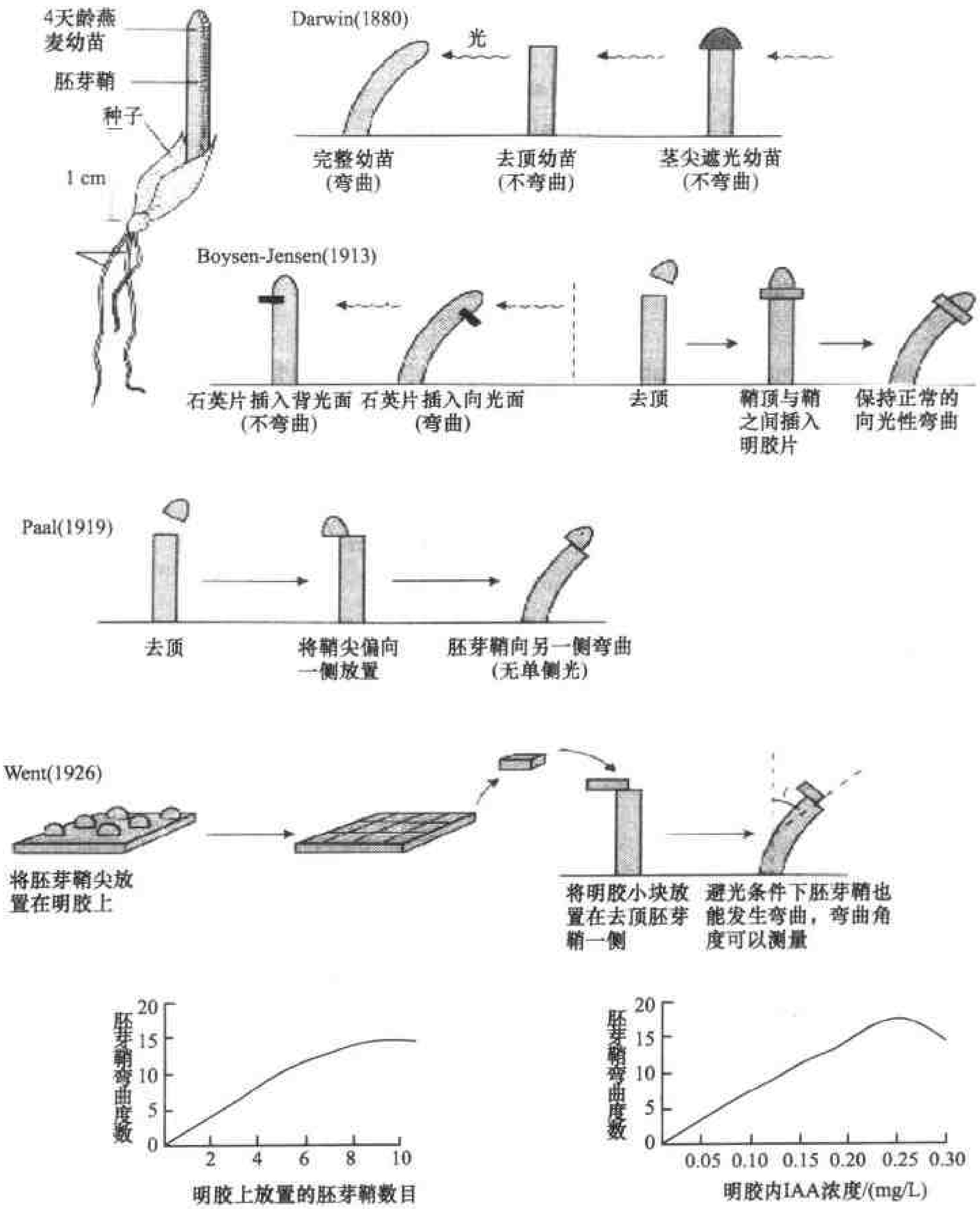



图 12-1 有关生长素研究的的几个早期经典试验(Taiz & Zeiger 1998)

达尔文根据鞘顶在胚芽鞘向光性生长过程中作用，认为生长刺激物在鞘尖产生并被传送到胚芽鞘生长区发挥作用；1913 年，Boysen-Jensen 发现鞘尖产生的生长刺激物可以穿过明胶，但是不能透过石英片；1919 年，Paal 的实验证实上述生长刺激物是某种化学物质；1926 年，Went 建立了生长素的燕麦胚芽鞘生物测定法。

程具有显著的调节作用。

植物激素从它的诞生开始，就一直借用动物激素的概念和研究方法，例如 20 世纪 70 年代以来发展的植物激素免疫化学分析方法就是借用医学动物学中内分泌的研究方法。在动物激素作用分子机制的研究飞速发展的今天，动物激素的研究手段和研究成果对植物激素的研究具有更大的指导意义和借鉴价值。

到目前为止，有充足证据被认为符合上述激素定义的植物激素有六大类：生长素(auxin)、细胞分裂素(cytokinin)、赤霉素(gibberellin)、脱落酸(abscisic acid)、乙烯(ethylene)及一类新的甾类植物激

素——油菜素内酯(brasinosteroloid)。其中最后一类,油菜素内酯,是在1998年第十六届国际植物生长物质学会会议上被确认为是植物激素的。长期的研究还发现了其他许多具有显著植物生理调节活性的植物内源物质,例如茉莉酸(酯)(jasminate)、水杨酸(salicylic acid)、多胺(polyamine)等,但是由于这些物质的生物合成和生理作用等方面还存在着许多有待研究的问题,目前只能被当作"植物生长物质"而不是"植物激素"来看待。

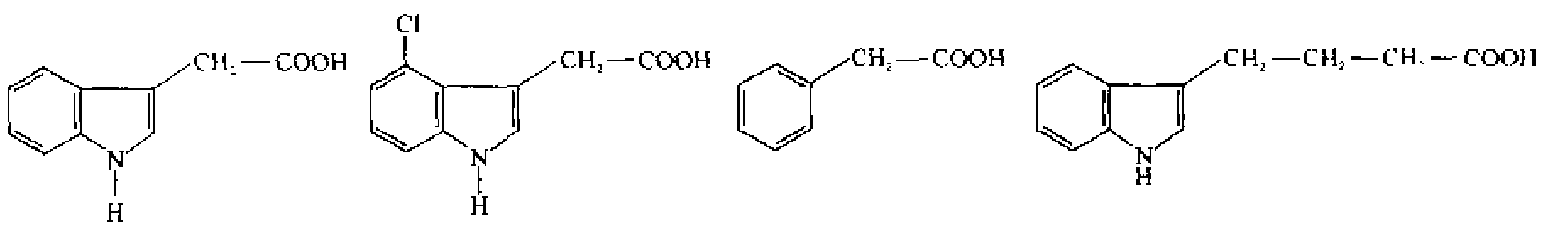
## 第二节　生　长　素

生长素是第一个被发现的植物激素。生长素在植物的茎尖合成,沿茎或根进行传输。生长素在茎切段试验和胚芽鞘试验中表现刺激细胞伸长生长,它的主要生理作用还包括诱导不定根发生、促进维管束分化、控制向性生长和顶端优势,以及调节植物开花坐果等生理过程。

### 一、生长素的发现和种类

生长素是在1928年由荷兰科学家F. W. Went首次分离出来的。Went把切下的燕麦胚芽鞘顶端在琼脂块上放置一段时间,让胚芽鞘顶端的物质渗入琼脂块内,然后将这些琼脂块放置在刚去顶的胚芽鞘上,发现如果偏向一侧不对称地放置琼脂块,胚芽鞘会发生向放置琼脂块一侧相反方向的弯曲生长(图12-1),并且这种弯曲生长的幅度与琼脂块中活性物质含量成正相关的关系。Went的试验不仅更确切地证明了胚芽鞘顶端产生的是一种具有生物活性的生长调节物质,而且建立了植物激素的第一种定量的生物测定方法——燕麦胚芽鞘弯曲试验法(*Avena* curvature test)。他将这种活性物质命名为生长素(auxin)(希腊语,促进的意思)。

Went的工作促进了人们对植物激素的研究工作。1934年,有人从孕妇的尿中提纯了生长素并鉴定了其化学结构为吲哚-3-乙酸(图12-2)。同时在酵母提取物和根霉(*Rhizopus suinus*)培养物中也提纯了IAA。1946年从未成熟的玉米胚中提纯了IAA。此后大量的试验证明IAA在高等植物中广泛存在,是植物体内主要的生长素。



吲哚-3-乙酸(IAA)　　4-氯-吲哚-3-乙酸(4-Cl-IAA)　　苯乙酸(PAA)　　吲哚-3-丁酸(IBA)

图12-2　几种天然存在的生长素分子结构

除了IAA,植物体内还发现有其他几种自然发生的具有生长素活性的物质,其中一些是吲哚类衍生物,例如吲哚-3-乙醇,吲哚-3-乙醛,吲哚-3-乙腈等,这些物质是IAA生物合成的前体,在体内通过转变成IAA表现生长素的活性。但是有一些植物内源化合物,如从玉米叶片和种子中提取的吲哚-3-丁酸(IBA),从莴苣种子中提取的一种IAA氯代物,4-氯吲哚-3-乙酸(4-chloroIAA)具有很强的生长素活性。Leuba等(1990)报道了一种植物内源芳香酸——苯乙酸(PAA)也具有生长素活性。因为IBA、4-chloroIAA和PAA都是植物内源产生的化合物,具有和IAA相似的结构,同时具有生长素的生物活性,所以有人认为它们也是植物内源生长素。但是目前还不十分清楚它们在体内是否通过转化为IAA才表现生长素活性的。

从化学结构上看,具有生长素生物活性的化合物的分子结构特征有如下三点:①具有一个芳香

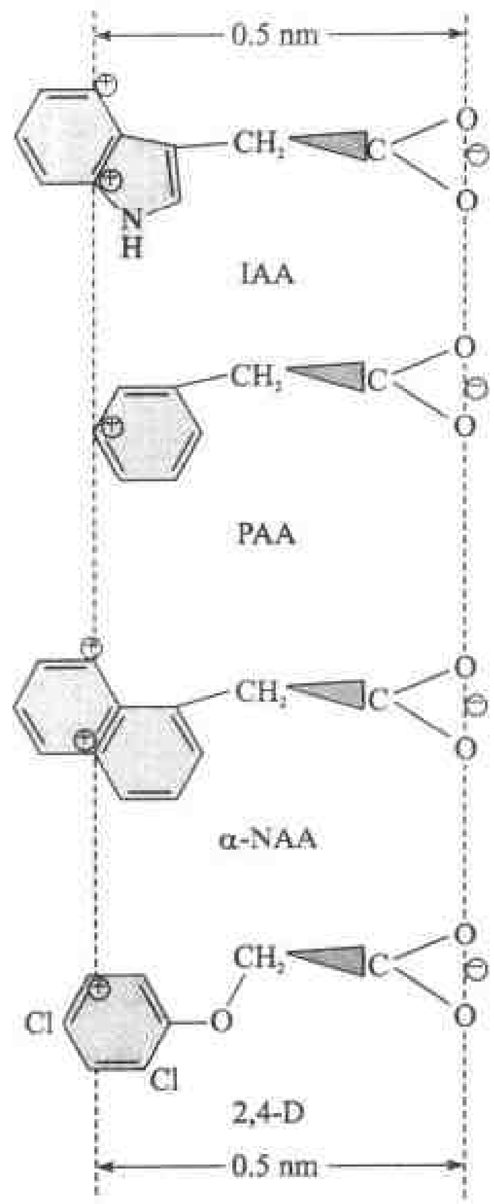



图 12-3 生长素及其分子结构特征
(Taiz & Zeiger 1998)
其中 α-NAA 和 2,4-D 是人工合成的生长素类似物。在解离状态下，侧链羧基上带负电荷，环上带正电荷，两者之间都具有 0.5nm 的间隔。

环；②具有一个羧基侧链；③芳香环和羧基侧链之间有一个芳香环或氧原子间隔。根据这些结构特点，人们合成了一系列的具有生长素生物活性的化合物(图 12-3)，如 2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)，α-萘乙酸(NAA)等，并在研究和生产中进行了大量的应用。通过合成生长素与生长素受体结合试验获得的数据进一步揭示了生长素类化合物结构特征的化学和生物学本质。在中性 pH 条件下，生长素类化合物的酸性侧链上荷有很强的负电性，而在距离该羧基侧链约 0.5nm 的芳香环上具有一个弱的正电区域(图 12-3)。这种相距 0.5nm 的正负电区域结构特征可能就是具有生长素生物活性结构的化学本质所在。最近，有人利用生长素结合蛋白(ABP1，一种可能的生长素受体)和各种合成的生长素化合物进行的结合试验表明，生长素和受体结合必须的结构特征有三点：一个平面的芳香环结构，是生长素和受体结合的平台；一个羧基结合位点；以及一个疏水侧链将上述两个结合基团隔离并维持固定的距离。这个试验揭示了生长素结构特征的生物化学本质。

## 二、生长素的生物合成、运输和代谢

### (一) IAA 的生物合成

生长素的生物合成部位都是细胞快速分裂的组织，例如茎尖分生组织，幼嫩叶片，发育中的果实都是主要的生长素合成器官。但是生长素在这些器官中的哪些具体部位合成，目前仍然不是很清楚。另外，成熟叶片、根尖也可以少量合成生长素。

生长素在化学结构上和色氨酸的结构类似，所以早期的研究者认为色氨酸是生长素的可能前体。事实也的确如此，利用标记色氨酸进行的体外和体内示踪试验证明，植物可以通过若干条途径将色氨酸转变成为 IAA，这些途径中的关键酶类(图12-4)也得到了提纯。这些途径我们称为色氨酸依赖途径(tryptophan-dependent pathway)。此外，最近的研究表明，植物还可以通过一些非色氨酸依赖途径(tryptophan- independent pathway)合成 IAA。IAA 合成途径的多样化可以保证植物体内 IAA 的稳定来源，也反映了 IAA 作为调节控制植物生长发育的基本激素的重要地位。

**1. 吲哚-3-丙酮酸途径**

吲哚-3-丙酮酸途径(IPA pathway)(图 12-4)可能是 IAA 生物合成中色氨酸依赖途径中的主要类型。该途径首先经过脱氨反应生成吲哚-3-丙酮酸(IPA)，然后 IPA 经过脱羧反应生成吲哚-3-乙醛，吲哚-3-乙醛经过一个脱氢酶的催化被氧化成为 IAA(图 12-4)。

**2. 色胺途径**

色胺途径(TAM pathway)(图 12-4 右)和 IPA 途径类似，只是脱氨和脱羧反应的顺序不同，另外参与反应的酶类也不同。在同一类植物中很少同时存在这两条途径，但是有证据表明在西红柿中同时存在 IPA 途径和 TAM 途径。

**3. 吲哚乙腈途径**

吲哚乙腈途径(IAN pathway)(图 12-4 中左)中，色氨酸首先被转化为吲哚-3-乙醛肟，然后再转化

为吲哚-3-乙腈，最后通过一种腈水解酶(nitrilase)将 IAN 转化为 IAA。在经过研究的 21 科植物中，只有三科植物具有 IAN 途径，它们分别是十字花科、禾本科(Graminae)和芭蕉科(Musaceae)。拟南芥中编码腈水解酶的四种基因(*NIT1*～*NIT4*)目前已被克隆，如果将 *NIT2* 基因导入烟草，获得的转基因植物可以将 IAN 分解为 IAA。

**4. 吲哚-3-乙酰胺途径**

吲哚-3-乙酰胺途径(IAM pathway)(图 12-4 左)存在于各种病原菌中，如萨氏假单胞菌(*Pseudomonas savastanoi*)和根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)。该途径有两个关键酶参与反应，色氨酸单加氧酶和 IAM 水解酶，这些病菌产生的生长素常常会引起其寄主的形态变化。

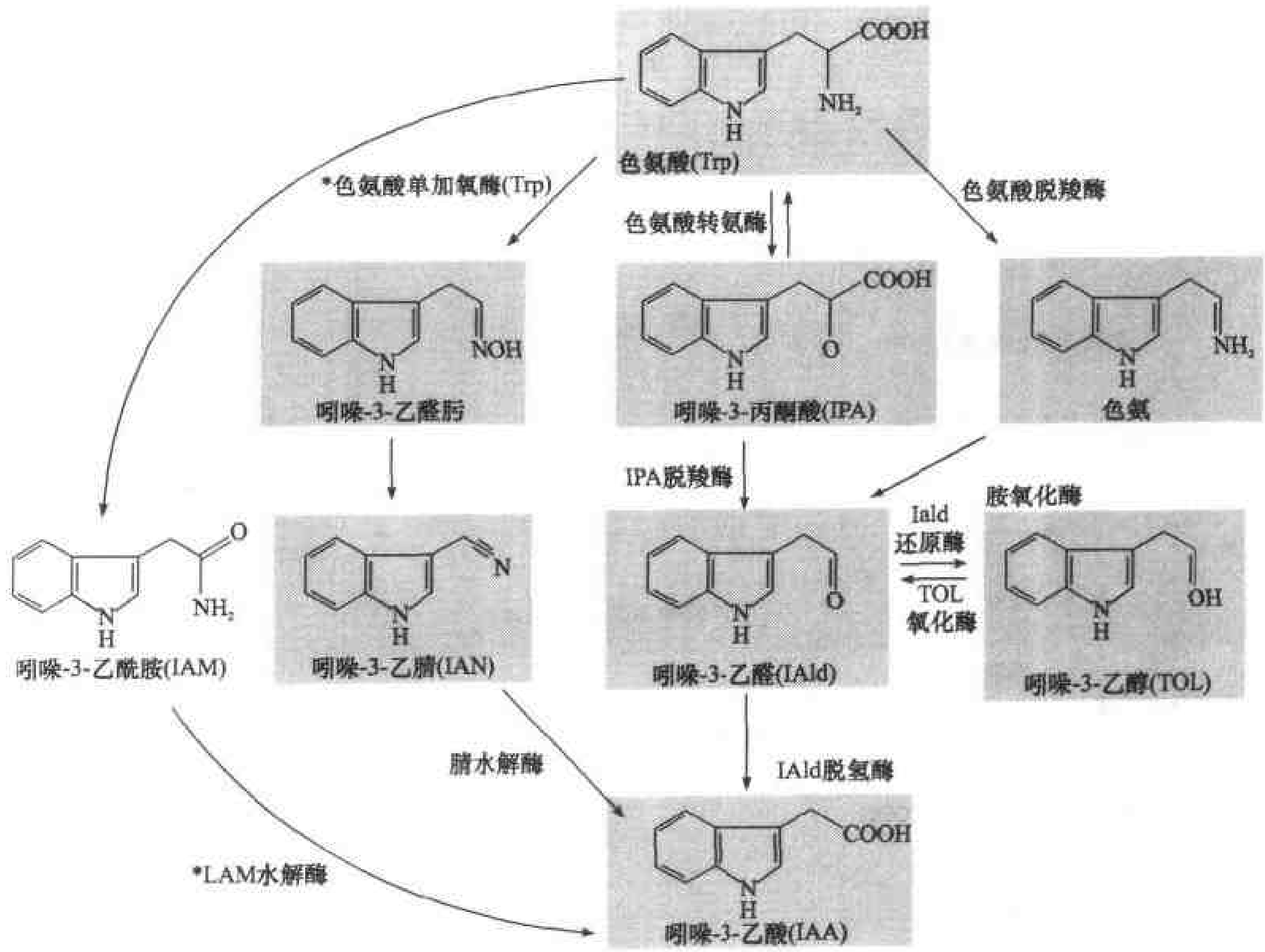



图 12-4　IAA 的色氨酸依赖合成途径(Taiz & Zeiger　1998)

带星号的酶只存在于微生物中。

**5. 非色氨酸依赖型合成途径**

研究中发现一种橙色果皮的玉米突变体(*orp*)，是完全的色氨酸营养缺陷型，即需要添加外源色氨酸才能存活。但是不论是 *orp* 突变体还是野生型的幼苗都不能将色氨酸转变为 IAA，即使给突变体幼苗饲喂足够量的色氨酸的情况下也是如此。相反的是在 *orp* 突变体内却含有比野生型植株高 50 倍的 IAA。这个试验事实充分证明，IAA 生物合成的非色氨酸依赖型途径不仅存在，而且在某些条件下是惟一的合成途径。

利用拟南芥色氨酸营养缺陷型突变体和同位素示踪标记进行的大量试验证明，IAA 生物合成的两条途径的分歧点是吲哚或者是吲哚的前体物吲哚-3-甘油磷酸酯。进一步的试验还证明，吲哚-3-乙腈(IAN)和吲哚-3-丙酮酸(IPA)可以不经过色氨酸而独立合成，并且这两种化合物是以吲哚或吲哚-3-甘油磷酸酯为前体的 IAA 生物合成途径的中间产物(图 12-5)。

非色氨酸依赖途径的大致轮廓如图 12-5 所示。非色氨酸依赖途径的发现，极大地改变了人们对

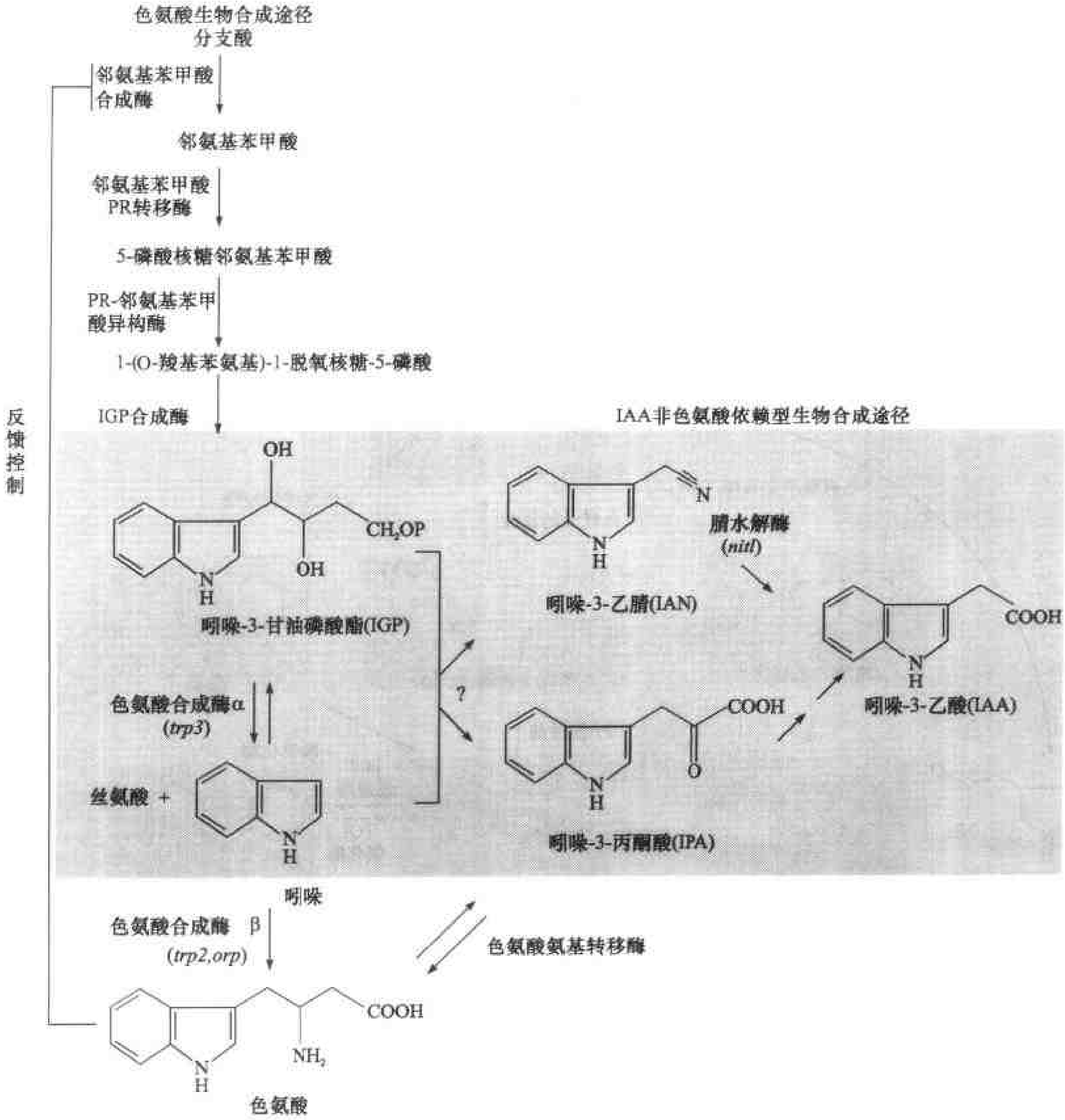



图 12-5 生长素的色氨酸不依赖型生物合成途径(Taiz & Zeiger 1998)

文中讨论的突变体以斜体字表示。该途径从色氨酸合成途径的分歧点可能是 IGP 或者是吲哚；IAN 和 IPA 是该途径的两个中间产物。

IAA 生物合成的认识。但是目前还不清楚这两条 IAA 生物合成途径的相互关系和相对重要性如何。试验发现在豆科植物幼苗中主要存在着色氨酸依赖途径，同样在悬浮培养的胡萝卜细胞中也是色氨酸依赖途径为主，但是从含 2,4-D 的培养基(诱导胚胎发生的培养基)转移到继代培养基后，细胞内的 IAA 合成就变为非色氨酸依赖途径。这个试验结果暗示 IAA 生物合成途径的不同可能与植物细胞不同的发育状态有关。

**6. 吲哚-3-丁酸(IBA)的生物合成**

吲哚-3-丁酸是人工合成生长素的主要类型，也是市售生根剂的主要成分。现在已知吲哚-3-丁酸(IBA)是存在于多种植物中的一种天然的生长素，如玉米、豌豆和拟南芥中都有发现。和 IAA 一样，植物体内的 IBA 也有游离态和结合态两种存在形式。外源添加的 IBA 会在植物体内迅速转变为结合态。在玉米和拟南芥中，IBA 是通过 IAA 侧链延长合成的，该反应与脂肪链的延长反应完全一致。

例如，从玉米中纯化出的 IBA 合成酶需要 CoA、ATP 作为辅助因子。由于发现在植物体中 IBA 也可以逆转为 IAA，所以目前还不知道在植物体内 IBA 是直接发挥作用，还是通过转化为 IAA 发挥生长素活性。

## （二）生长素的运输

**1. 生长素在植物中的极性运输**

在 50 多年前利用燕麦胚芽鞘进行的试验已经发现生长素的运输主要是从顶端向茎基部的运输[向基性运输(basipetally transport)]。这种单一方向的运输模式称为极性运输(polar transport)。生长素是惟一具有极性运输性质的植物激素。因为茎尖是植物体主要的生长素合成部位，所以向基性的极性运输沿着植株茎干和根系形成一个上高下低的生长素浓度梯度，这种纵向的生长素浓度梯度影响植物的许多生理过程，如茎的伸长生长、顶端优势、不定根发生以及叶片脱落等。

研究生长素极性运输的的经典试验是所谓的“供体-受体琼脂块方法”(donor-receiver agar block method)(图 12-6)。利用该试验方法，确认了生长素的极性运输性质，即在胚芽鞘或植物茎节中，生长素主要是向基性运输。无论植物切段的放置方向如何，这种向基性运输性质不会改变，所以认为生长素的运输不受重力方向的影响。不同植物或组织中参与生长素运输的细胞可能不同，例如在燕麦胚芽鞘中主要是在非维管束组织的细胞，而在双子叶植物茎中，主要是维管束薄壁细胞。

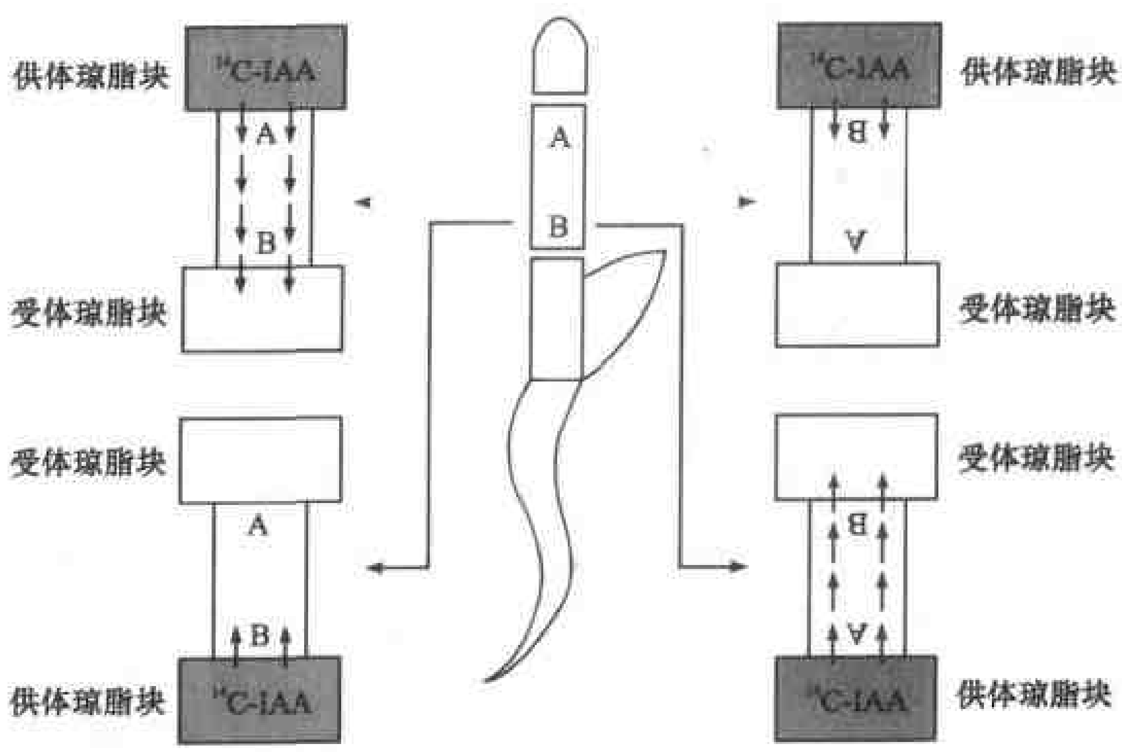



图 12-6 燕麦胚芽鞘切段中生长素的极性运输

供体琼脂块含有$^{14}$C-IAA，无论切段的放置方向如何，IAA 只能从形态学上端(A)向形态学下端(B)运输。

生长素的极性运输是采取“细胞-细胞壁空间-细胞”的形式，即一个细胞中的生长素透过质膜流出到细胞壁，然后再通过质膜流入下一个细胞内。这个过程是一个需能的过程，因为生长素的极性运输受缺氧和呼吸抑制剂的影响。生长素的极性运输速度大约是 1cm/h，比通过细胞膜的单纯扩散快约 10 倍，但是比韧皮部的运输速度慢 100 倍。生长素的极性运输对分子结构具有选择性，即只有活性内源或合成生长素具有极性运输性质，而一些无活性的生长素类似物或生长素的代谢物不表现极性运输性质。这表明生长素的极性运输可能有存在于质膜上的一些载体蛋白参与，它们可以特异地识别活性和非活性的生长素及其类似物。

植物根中的生长素也表现极性运输性质，不过是由根基部向根尖方向的运输，即向顶性运输(acropetally transport)。

**2. 生长素的极性运输模型**

生长素极性运输的化学渗透模型有两个重要的步骤：首先，生长素在质子势和化学势的推动下从细胞壁通过质膜流入细胞；其次，细胞内生长素在化学势的推动下借助于细胞基端的载体蛋白流出细胞(图 12-7)。

生长素流入细胞可能有两个途径：通过磷脂双层膜的被动扩散和质子势驱动的协同运输。IAA

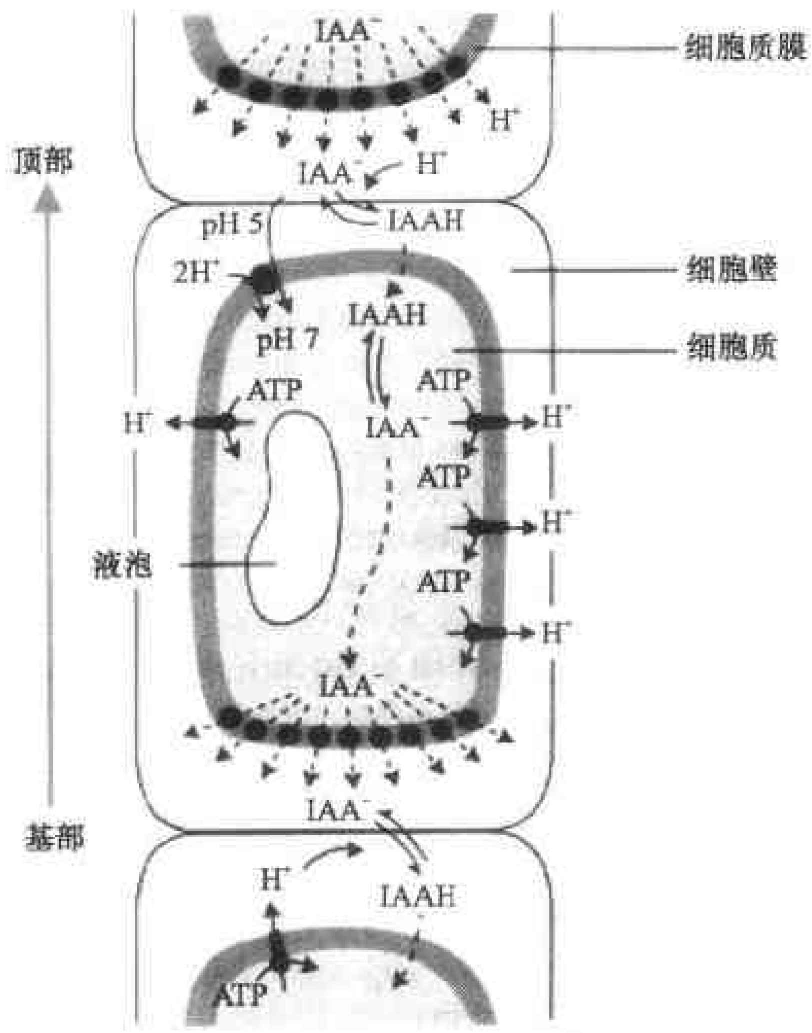



图 12-7 生长素极性运输的化学渗透模型
(Taiz & Zeiger 1998)

细胞壁在 $H^+$-ATPase 的作用下维持酸性，生长素以 IAAH 形式扩散进入细胞质，或者在透性酶的协助下以 $IAA^-$ 的形式和 $H^+$ 协同运输进入细胞质；细胞质中性，IAA 主要以 IAA 的形式存在，$IAA^-$ 可以在细胞基部的流出载体协助下输出到细胞壁。

的 pKa=4.75，因为原生质膜上的质子泵的作用，细胞壁内的 pH 一般被维持在 pH5 左右，在这个 pH 条件下，将近半数生长素的侧链羧基处于一种非解离的状态，表现较强的亲脂性，根据相似相溶的原理，非解离的生长素比较容易通过扩散透过质膜。试验也证实，降低细胞壁内的 pH 可以促进 IAA 流入细胞。

生长素进入细胞还存在着一种由载体介导的主动运输途径。在这个途径中，质膜上的特异载体将一个 $IAA^-$ 输送到细胞内的同时，也将两个 $H^+$ 协同运输到细胞内。因为这种运输可以被质膜两侧的质子势差推动，所以比单纯扩散更有利于生长素在细胞内的积累。虽然目前还没有分离出生长素的吸收载体蛋白，但是在拟南芥突变体的研究中，发现了一种潜在的生长素吸收载体蛋白存在。一种称为 *aux1* 的拟南芥突变体，表现为生长素不敏感和无向地性生长的表型，经过研究发现 *AUX1* 基因编码一种与氨基酸透性酶(permease)氨基酸序列非常类似的蛋白质，暗示 *AUX1* 可能是氨基酸类信号物质的传递者。因为 IAA 在化学结构上类似于色氨酸，所以 AUX1 载体蛋白可能就是 IAA 吸收载体蛋白。

IAA 进入细胞后，因为细胞质的 pH 大约是 7.2，呈弱碱性，所以几乎所有的 IAA 都解离为荷负电的阴离子状态($IAA^-$)，因为 $IAA^-$ 不容易通过简单扩散透过细胞质膜，所以生长素在细胞质内发生积累。现在已经证实，生长素流出细胞是通过生长素流出载体(auxin efflux carrier)进行的。值得强调的是，生长素流出载体只存在于细胞的基端，这是生长素化学渗透极性运输模型的关键所在。Jacobs 和 Gilbert (1983)利用抗 NPA 结合蛋白(即生长素流出载体)的单克隆抗体进行的免疫组织化学试验中，生长素流出载体被定位在豌豆茎维管束鞘薄壁细胞的基端。

综上所述，细胞壁空间内的生长素通过扩散或在流入载体的协助下从细胞的顶端流入，又在流出载体的协助下，从细胞基端流出到细胞壁空间，这个过程反复进行，就形成了生长素的极性运输。

**3. 生长素在韧皮部的非极性运输**

在成熟叶片中合成的生长素大部分是通过韧皮部进行非极性运输的，和其他韧皮部运输的物质一样，可以沿着植物茎干向上或向下运输。大部分生长素结合物的运输也是通过韧皮部进行的，例如萌发的玉米种子中生长素结合物就是通过韧皮部从胚乳运输到胚芽鞘顶端的。生长素的沿韧皮部的长距离运输可能对形成层活动以及侧根发生具有调控意义

## (三) 生长素的代谢

生长素的代谢包括生长素结合物的形成和水解、生长素的降解两部分内容。生长素的代谢对维持植物细胞内生长素平衡、调节特定的生理活动有着重要的意义。

**1. 生长素结合物**

游离的 IAA 是活性形式的激素，但是植物体内绝大多数的生长素却是以共价键结合物形式存在的，而且所有的高等植物中都存在着生长素的结合物，一般认为生长素的结合物都是非活性的。

IAA 小分子结合物的例子有，与葡萄糖和肌醇的酯类结合物，与天冬氨酸等的氨基结合物（IAA-*N*-aspartate，参见图 12-8）；IAA 高分子结合物的例子有 IAA-葡聚糖（7～50 个葡萄糖单位结合 1 个 IAA 分子），以及在谷类种子中发现的 IAA-糖蛋白结合物。

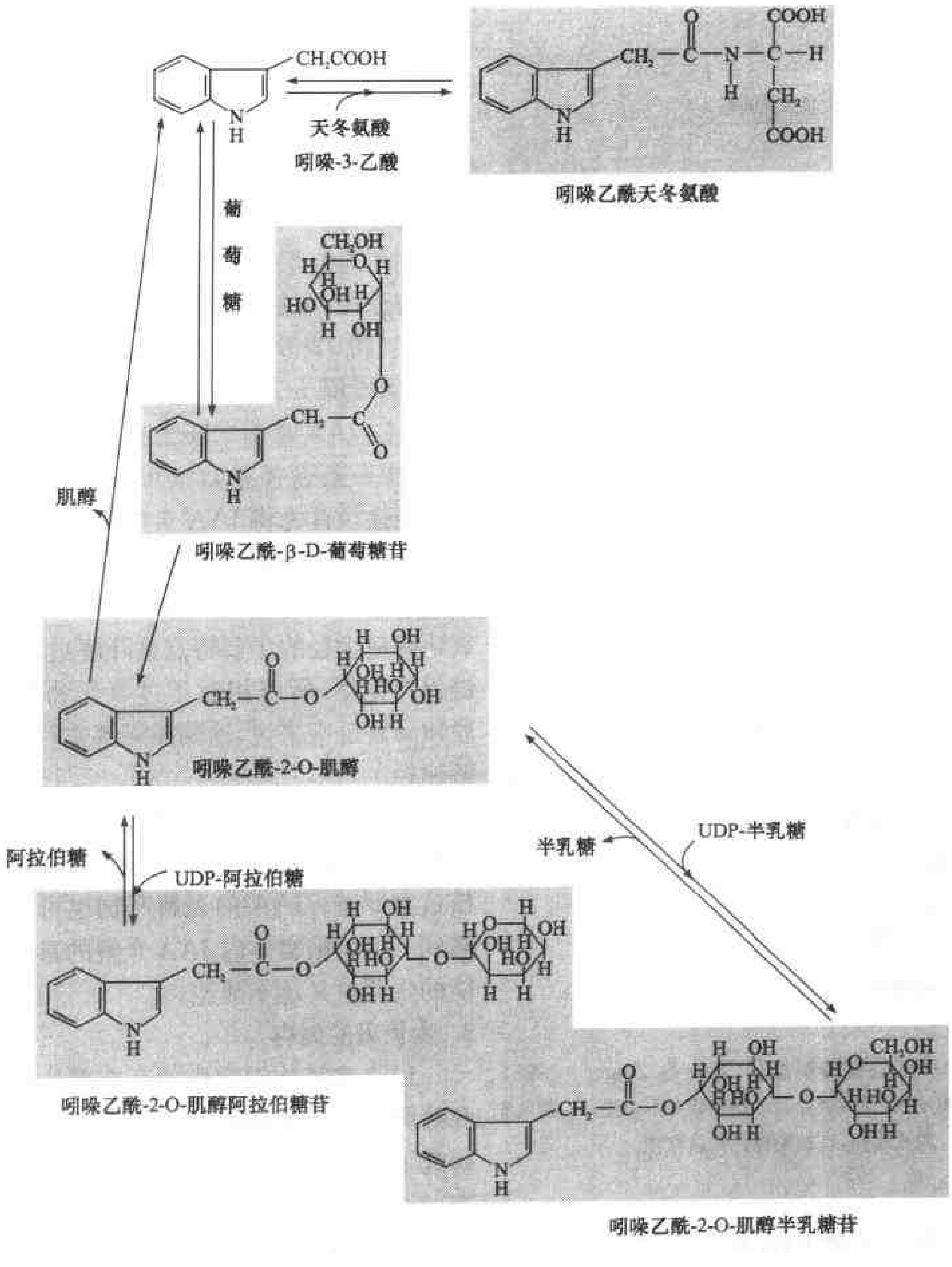



图 12-8　生长素（IAA）结合物的代谢途径（Taiz & Zeiger　1998）

IAA 结合物的形成受相应酶的催化。其中研究最多的是玉米中催化 IAA-葡萄糖苷形成的酶——5′-二磷酸葡萄糖：吲哚-3-乙酰葡萄糖基转移酶，编码该酶的基因已经得到了克隆。

生长素结合物具有重要的生理意义。生长素结合物的形成和降解可以调节植物组织内源生长素的水平。例如在玉米种子的萌发过程中，IAA-肌醇从胚乳经韧皮部运输到胚芽鞘，然后水解为游离的 IAA。胚芽鞘顶端的游离生长素很大一部分是由 IAA-肌醇水解产生的。另外，一些环境因子也会影响生长素结合物的形成和降解，对植物细胞内的游离 IAA 水平起一种调节作用。生长素结合物还有

储存、运输和抗氧化降解的功能。

**2. 生长素的降解**

生长素的降解也是多途径的，主要有酶解和光解两个类型。过去曾经认为过氧化物酶是催化IAA氧化降解的主要酶类，因为该酶在植物中广泛存在，并且在体外试验中过氧化物酶可以氧化IAA（图12-9A）。但是该降解途径在植物体内是否存在尚不清楚，例如在转基因植物中，即使过氧化物酶活性提高10倍或降低10倍，对内源生长素水平都没有影响。

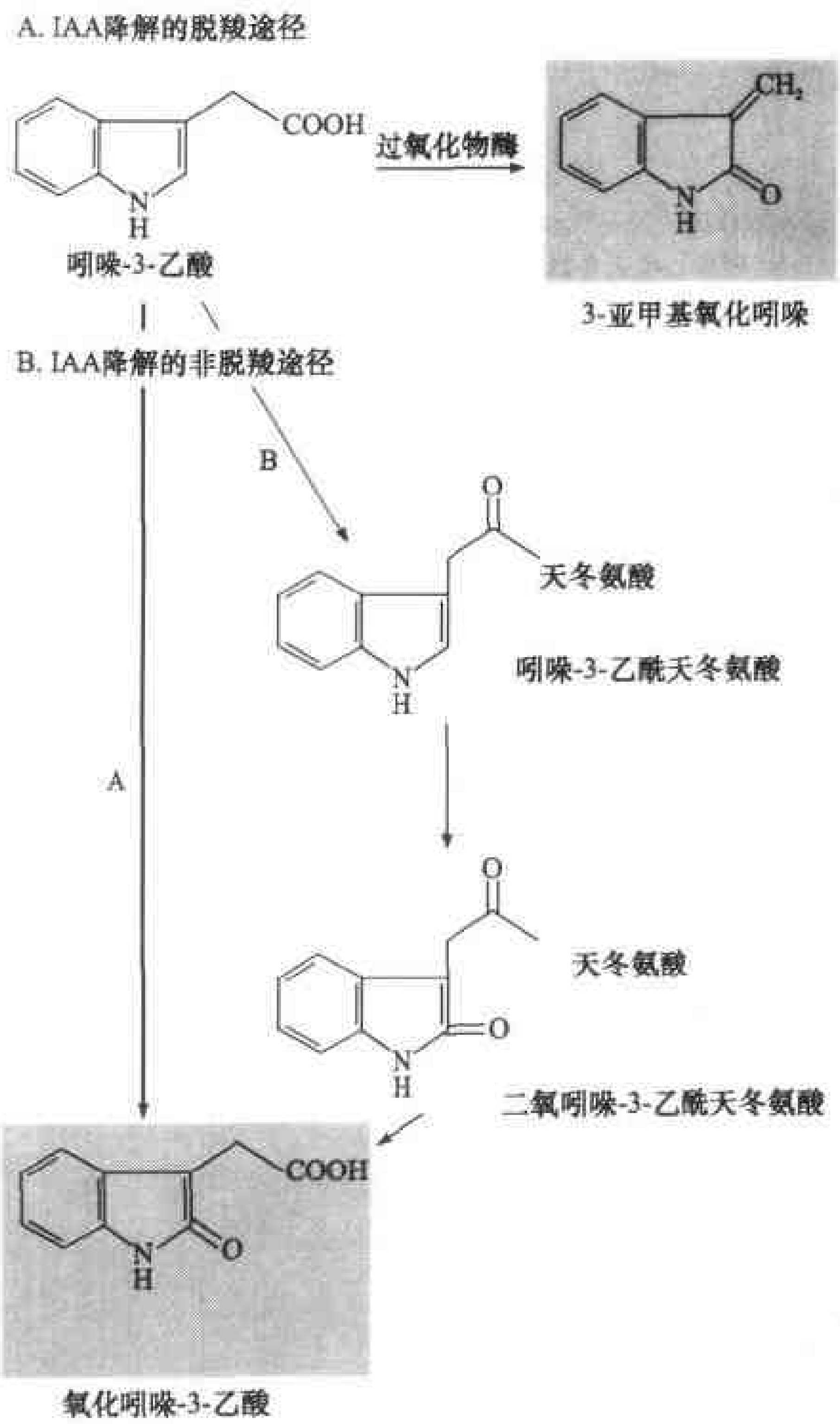



图12-9 IAA的生物降解途径(Taiz & Zeiger 1998)

A. 过氧化物酶途径(脱羧途径)，该途径相对不重要；B. 两条非脱羧途径，在植物体内普遍存在。

利用同位素标记试验发现了其他两条IAA氧化降解途径，可能是植物体内控制IAA降解的主要途径（图12-9B）。这两条降解途径的最终产物都是羟吲哚-3-乙酸（oxindole-3-acetic acid，OxIAA），OxIAA在玉米胚乳或茎组织中都可以检测到，其中一条途径是直接将IAA氧化为OxIAA，另一条途径首先将IAA-天冬氨酸结合物氧化为中间产物二氧吲哚-3-乙酰天冬氨酸（dioxindole-3-acetylaspartate），然后再转变为OxIAA。这两条氧化降解途径的主要特点是降解过程中IAA的侧链保持完整，所以相对于过氧化物酶催化的IAA脱羧降解反应来说，这两条降解途径也称非脱羧降解途径。

IAA的水溶液如果暴露在光下可以发生光解反应，而且这种光解反应可以被一些植物色素，如核黄素促进。IAA的光解产物也可以从植物中检测到。但是植物体内IAA光解的具体过程及其可能的生理意义还不清楚。

**3. 生长素的储存**

IAA在植物细胞内的存在部位主要是细胞质和叶绿体。瑞典科学家Sandberg及其同事系统地研究了IAA在野生型和转基因烟草细胞内的分布，发现野生型烟草细胞中大约三分之一的IAA存在于叶绿体中，其他IAA存在于细胞质中，而IAA结合物只存在于细胞质中。在导入根癌农杆菌生长素合成基因的转基因烟草细胞中，发现生长素生物合成的中间产物只存在于细胞质中。据此推测细胞中IAA的两个分布部位具有不同的意义：IAA在细胞质中发生从头生物合成（*de novo* biosynthesis）、结合物合成以及非脱羧降解反应等；而叶绿体中的生长素受到保护，不受代谢的影响，但是其浓度受细胞质中IAA浓度的平衡调节。

## 三、生长素的生理功能

### （一）生长素促进细胞伸长生长

**1. 生长素促进离体茎段的伸长生长**

生长素的主要生理功能之一是调节茎节细胞的伸长生长。生长素的发现就和它促进向光性生长过程中的胚芽鞘背光面细胞伸长生长，以及促进燕麦胚芽鞘切段伸长生长这些典型生理现象有关。利用生长素的这种生理作用，早期的研究者设计了一系列的生长素生物测定方法。如利用切除顶端的燕麦胚芽鞘切段或者在暗中培养的豌豆茎切段可以进行生长素的生物测定(bioassay)。

现代分析技术为定性和定量测定植物体内的激素提供了许多先进的方法，如色谱技术、质谱技术、免疫测定技术等。但是目前生物测定技术仍广泛应用于植物激素的研究中。所谓生物测定，就是根据某种化合物与某种生理现象之间的特定关系，利用生物材料进行的定性或定量的测定。生长素的生物测定试验就是建立在生长素浓度和燕麦胚芽鞘弯曲或伸长生长等生理反应之间相关关系上的一种定量测定方法。图 12-10 所示的是生长素浓度和生长素促进茎节伸长生长现象之间的关系曲线，随着生长素浓度的升高，其促进茎节伸长生长就越快，直到一个最适浓度为止，对于一般双子叶植物茎段来讲，这个浓度大约是 $10^{-6}\sim10^{-5}$ mol/L。超过最适浓度的生长素对细胞伸长生长的促进作用会下降，高到一定的浓度时反而对伸长生长表现抑制作用，这是因为过高的生长素浓度会诱导乙烯的生成，乙烯会抑制细胞的伸长生长(参见本章第六节)。

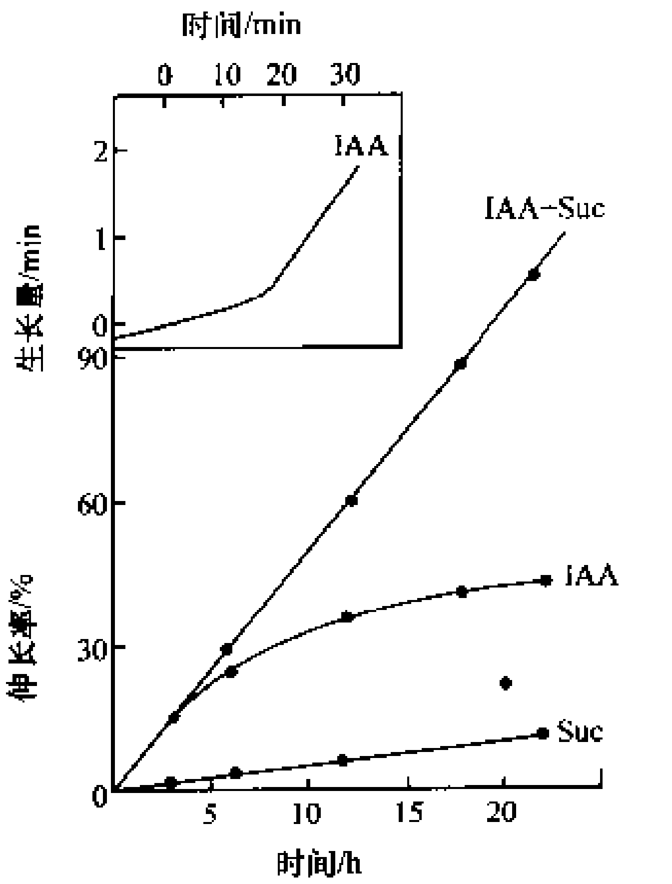



图 12-10　生长素诱导的燕麦胚芽鞘切段的生长动态(Taiz & Zeiger 1998)

当温育溶液中含有蔗糖(Suc)时，IAA 促进的伸长生长可以维持 20 小时以上，这主要是由于蔗糖被细胞吸收后降低溶质势，促进细胞吸收水分，维持细胞生长所需的膨压。KCl 可以替代蔗糖的作用。左上角的小图表示生长素的生长促进作用有大约 15 分钟的迟滞期。

外源添加生长素对完整植物茎或胚芽鞘的伸长生长并不表现促进作用，这可能是因为完整植株内内源生长素浓度足以支持茎或胚芽鞘进行最大限度的伸长生长。也就是说，外源生长素促进细胞和茎段伸长生长的现象，只能在脱离植物体的茎切段或胚芽鞘切段上明显地表现出来，因为这些植物切段被除去了茎尖和胚芽鞘顶尖等生长素供应源，而且在试验中还常常用缓冲液浸泡处理，以尽可能地除去组织切段中内源的生长素，才能使外源的生长素表现出促进细胞和茎段伸长生长的作用。

**2. 生长素促进细胞伸长生长的酸生长理论**

生长素促进细胞伸长生长的效应是非常迅速的，从处理到发挥效应之间的滞后时间大约是 10 分钟，同时伴随着细胞壁的酸化。生长素诱导的细胞壁酸化与促进生长的迟滞期一样，都是 10～15 分钟，在中性的缓冲液中，即使含有生长素，由于细胞壁酸化受到抑制，细胞的伸长生长也会受到抑制；相反地，无生长素的酸性缓冲液可以促进细胞的伸长生长。根据上述实验结果，20 世纪 70 年代初人们提出了生长素促进细胞伸长生长的酸生长理论(acid growth theory)。目前关于该模型的认识请参照图 12-11。

过去曾经认为酸性 pH 活化了细胞壁中的一些水解酶，如纤维素酶、半纤维素酶或果胶酶等，使细胞壁松弛，以利于生长。这些水解酶会导致细胞壁的不可逆的降解，但是在生长素诱导的细胞壁酸

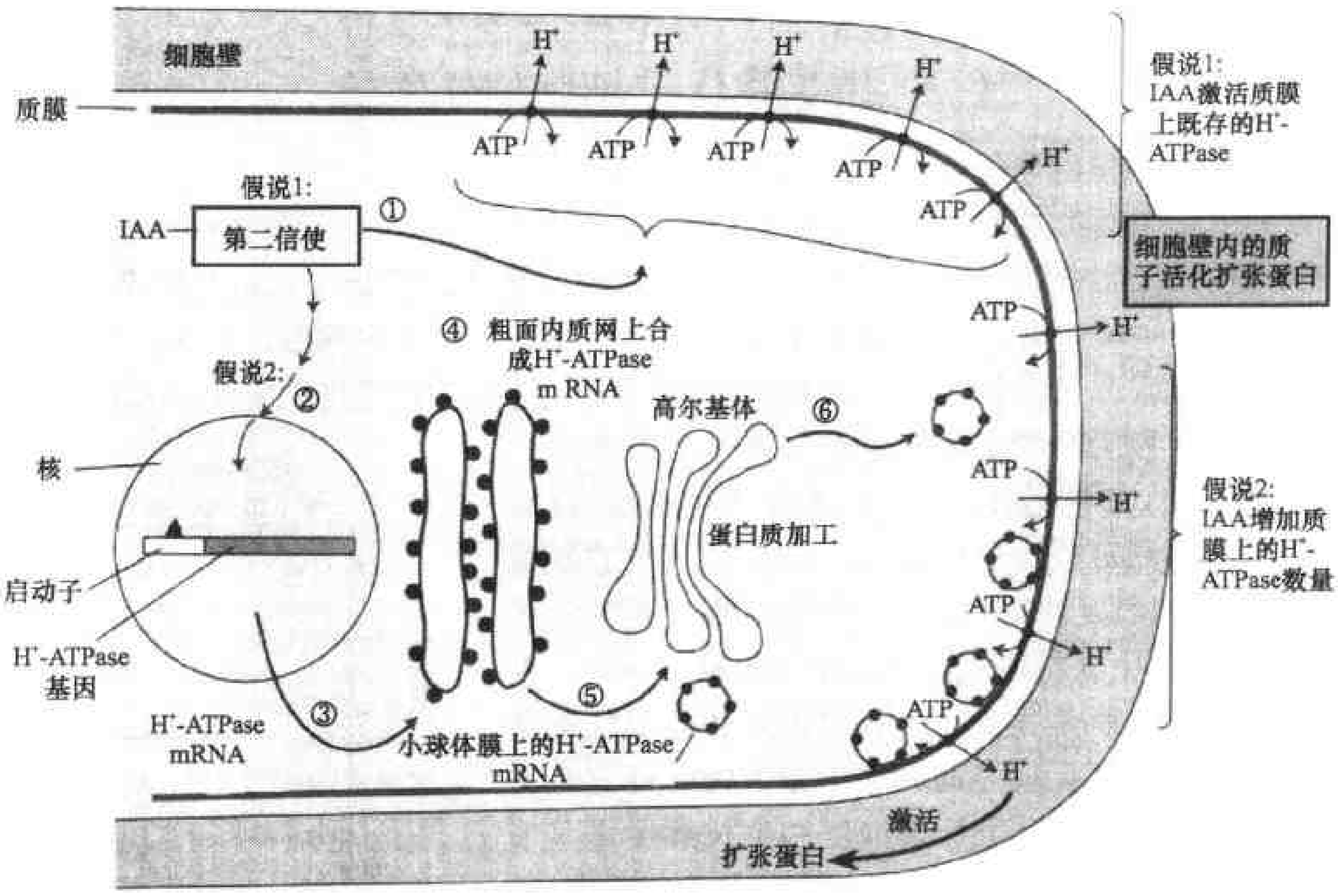



图 12-11 IAA 诱导的酸生长模型

图中假说 1，IAA 诱导细胞内的第二信使系统，直接活化质膜上已存在的 $H^-$-ATPase；假说 2，IAA 诱导的第二信使系统启动编码 $H^+$-ATPase 的基因表达，合成新的 $H^+$-ATPase。图中①～⑥表示信号传递、基因表达以及蛋白质合成的顺序。膜上 $H^+$-ATPase 活性或者数量的增加，使细胞壁酸化，激活细胞壁上的扩张蛋白，使细胞壁基质松弛，有利于细胞的生长。

生长过程中，松弛的细胞壁可以在代谢抑制剂的作用下得到迅速恢复，所以现在不认为有水解酶参与细胞的酸生长过程，而是细胞壁中的扩张蛋白(expansin)在细胞壁的酸生长过程中起着疏松细胞壁的作用。扩张蛋白不仅可以在酸性缓冲液中恢复细胞壁的伸展性，甚至可以疏松完全由纤维素组成的滤纸！扩张蛋白疏松细胞壁的原理是它在酸性条件下可以弱化细胞壁多糖组分间的氢键。

**3. 根、茎细胞伸长生长对生长素的敏感性不同**

和对植物茎的作用一样，生长素也促进根系的伸长生长，但是生长素促进根系生长的最适浓度要低得多。稍高浓度的生长素就会抑制根系的伸长生长，可能的原因是生长素诱导乙烯的产生，乙烯抑制了根系生长。有试验证实，如果特异地抑制根系中的乙烯合成，很低浓度的生长素($10^{-10}$～$10^{-9}$ mol/L)可以促进根系的生长，但是即使在这种情况下，稍高一些浓度的生长素($10^{-6}$ mol/L)仍然会抑制根系的生长。所以，相对于植物茎而言，根系生长仅仅需要极低浓度的生长素。这可能是根系对生长素更敏感的缘故，因为根尖生长区距离茎尖等生长素的合成部位距离最远。

## (二) 生长素诱导维管束分化

生长素的一个非常重要的生理作用就是诱导和促进植物细胞的分化，尤其是促进植物维管组织的分化。例如正在快速生长的幼嫩叶片内产生的生长素，可以诱导茎内的维管束分化与之贯通。在幼芽或幼叶下面的维管束分化是从上向下进行的，即呈向基性(basipetal)的极性分化方向。春天木本树木萌动的幼芽对形成层的活化也是从上向下进行的，所以新一轮的木质部和韧皮部生长是从幼嫩的枝条开始，逐渐向根部移行的。这是因为幼叶或幼芽内产生的生长素在控制着维管束的分化。茎

内的维管束再生也受生长素的控制。如果在茎上切一个楔形缺口，将维管束切断，那么伤口内侧的薄壁细胞就会重新分化成为维管束，恢复上下维管束的连接（图12-12）。在这个过程中，无论是木质部还是韧皮部的分化，都受生长素的控制。如果将伤口上部的叶片去掉，断绝生长素的来源，就会抑制维管束的分化；由于生长素是从上向下的极性运输，所以去掉伤口下部的叶片，不会影响维管束的再生分化；如果外源供应生长素，会发现维管束分化的量和再生速度与生长素的供应量呈显著的平行关系。

生长素影响维管束的分化还可以利用组织培养的方法得到证明。如果将一个幼芽嫁接到一块愈伤组织上，经过一段时间的培养以后，会观察到嫁接幼芽的下边会分化出维管束组织，这是因为幼芽可以产生并分泌生长素到愈伤组织内。如果把嫁接的幼芽换成含生长素的琼脂块，可以观察到同样的现象。

生长素对维管束分化的控制还得到了转基因植物试验的证明。将根癌农杆菌中的生长素合成基因导入矮牵牛内，会导致植株内的木质部导管数量显著增多，但是导管的长度会变短；相反，如果把一种细菌内编码IAA结合物合成酶的基因导入西红柿内，则导致植株内木质部导管数目的减少，但是单个导管分子的长度增加了。这表明生长素不仅调节木质部导管分化的数量，而且还影响导管分子的长度。

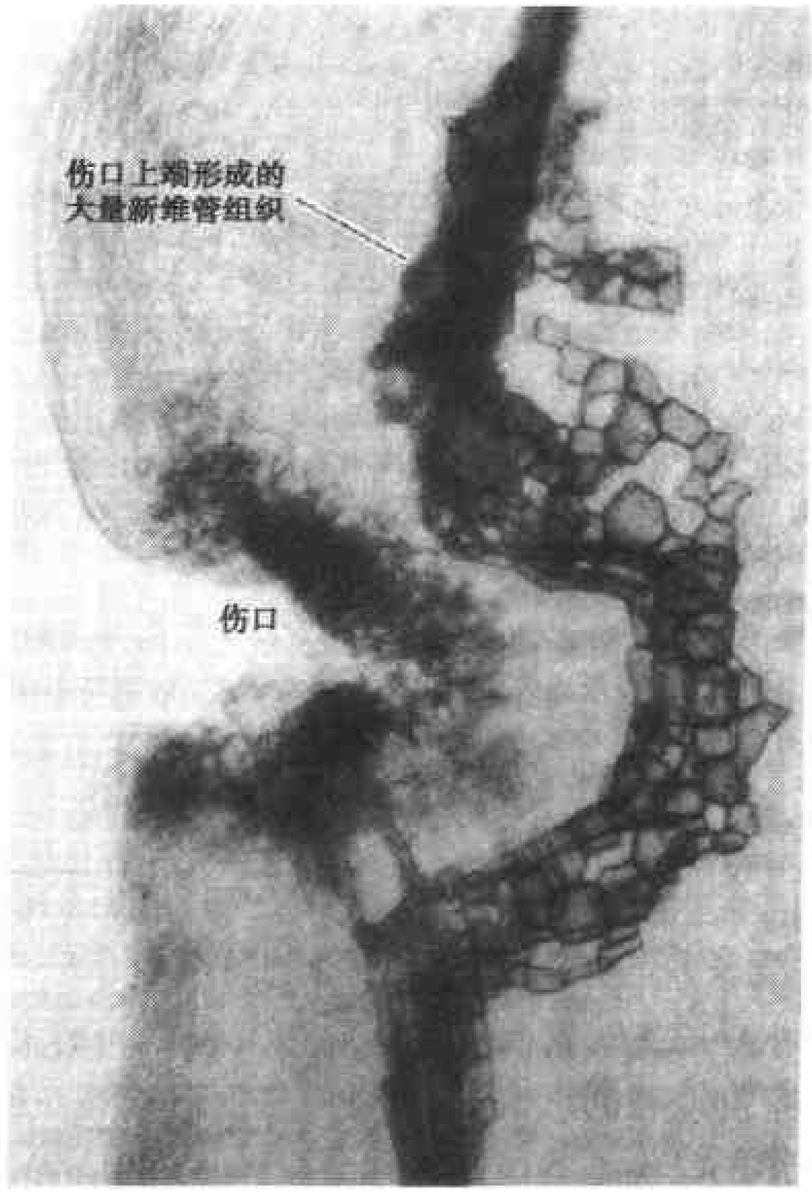



图12-12 IAA诱导黄瓜（*Cucumis sativus*）茎伤口的薄壁细胞形成维管束（Taiz & Zeiger 1998）

去掉茎切口上端的叶片和芽以消除内源生长素的影响。将含IAA的羊毛脂涂抹在切口上端的茎上，生长素沿维管束薄壁细胞运输到伤口附近，诱导新的维管组织从伤口上端开始形成，并向下延伸，最后和伤口下端的维管束重新恢复连接。

## （三）生长素促进侧根和不定根发生

尽管较高浓度的生长素抑制根的生长，但是高浓度的生长素（$>10^{-8}$mol/L）可以促进侧根（lateral root）和不定根（adventitious root）的发生。植物根系侧根的发生一般在伸长区和根毛区的上端，由中柱鞘上的某些细胞分化而成。生长素可以诱导这些细胞分裂，并逐渐形成一个根原基，最后穿透皮层和表皮，形成一个侧根。如果将植株去掉幼芽或幼叶，会大幅度地减少侧根的发生。不定根的发生和侧根的发生比较类似，但是不定根可以从多种多样的组织上发生，例如根、茎，甚至叶片和组织培养中形成的愈伤组织等。这些组织中的成熟细胞会脱分化重新恢复分裂，形成不定根原基，最后形成不定根。

生长素促进不定根发生的性质在园艺和农业生产上应用非常广泛。植物的无性营养体繁殖主要靠插条繁殖，植物插条或叶片在水培或湿润的土壤培养条件下，可以从切口附近长出不定根。这是因为叶片或幼芽形成的生长素从上向下极性运输，最后积累在插条的切口附近，从而刺激不定根的发生。如果利用生长素处理插条切口，会大幅度促进不定根的形成速度和数量。市售的生根剂主要是合成的生长素类化合物和滑石粉或成膜剂的混合物。

生长素在侧根形成中的作用分为两步，首先是生长素极性运输到中柱鞘细胞并在其中积累到一定浓度，诱导这些细胞开始分裂；然后生长素刺激并维持细胞持续分裂、生长和分化，最后形成侧根（图12-13）。

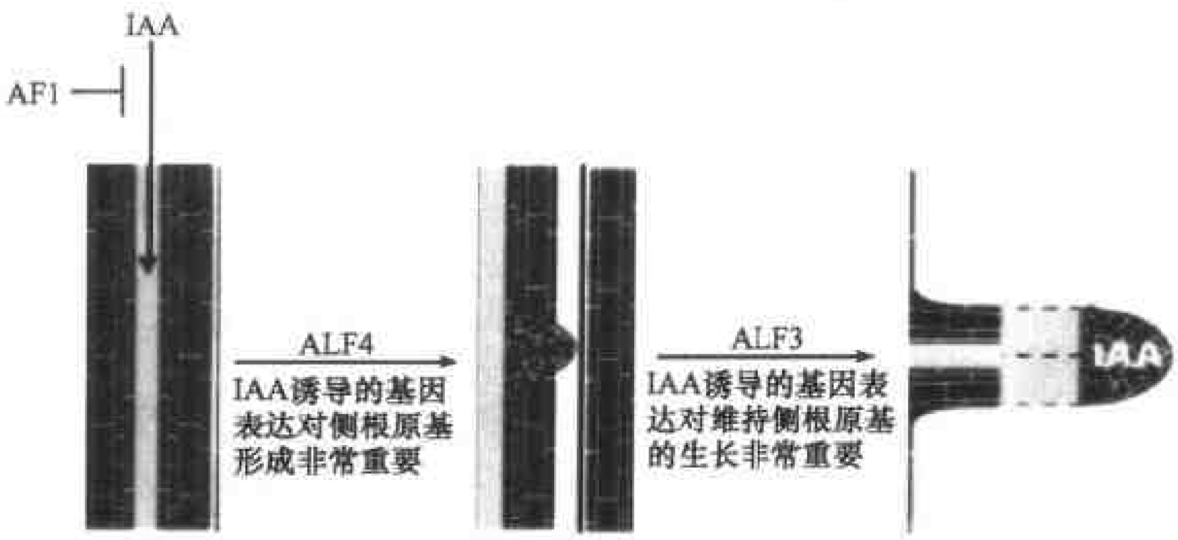



图 12-13　拟南芥侧根形成的模式图(Taiz & Zeiger　1998)
IAA 沿维管束薄壁细胞的向基性运输诱导中柱鞘细胞产生侧根原基,*ALF4* 基因参与了侧根原基诱导的过程;
IAA 对维持侧根原基的生长具有重要作用,*ALF3* 基因可能参与了侧根生长过程的调控。

## (四) 生长素影响花及果实发育

**1. 生长素与花芽诱导和性别控制**

目前生长素与花芽诱导和发育之间的关系不是十分明确。因为在许多植物上,外源施用生长素常常抑制花的形成,这种抑制作用可能是一种衍生的次级反应,即可能是生长素诱导的乙烯产生的抑制作用。例外的情况是凤梨(*Bromeliaceae*)属植物,生长素或乙烯处理可以强烈促进开花。利用这个现象,在生产中利用喷施生长素或乙烯利的方法来刺激菠萝开花,同时还可以达到控制成熟时间的目的。

有人在研究中发现,生长素的极性运输抑制剂 NPA 可以导致拟南芥花芽分化和发育的异常。最近,拟南芥的一种突变体 *pin1-1* 呈现出与 NPA 处理植株相似的表现型,花发育异常,如没有花柱,雌蕊内没有胚珠,甚至在某些情形下不能形成花芽。这种突变体花茎中的生长素极性运输受到严重抑制,仅有野生型的 90%,所以 *PIN1* 基因可能是与花茎中生长素极性运输的调节有关。这个事实也说明生长素与花的形成和发育是有密切关系的。

花芽一旦形成,生长素在花的发育以及性别决定方面开始担负着重要的角色。例如葫芦等植物的花在发育早期都是两性的,但是发育后期其中一种性别的器官退化,形成单性花。在这些花的发育早期利用生长素处理可以使其发育成为雌性花。有人认为这种效果是生长素诱导的乙烯产生的。

**2. 生长素与果实发育**

在正常情况下,坐果(即子房开始发育)必须在成功的授粉和受精之后才能进行。这是因为花粉和胚乳细胞中大量产生生长素,刺激子房的发育形成果实。果实发育初期的生长素来源主要依赖胚乳细胞,在果实发育后期,生长素的主要来源是胚。同时人们发现花粉中含有大量的生长素,花粉的提取物可以刺激未授粉的茄科(*Solanaceous*)植物的坐果。这种不通过授粉就能坐果的现象称为单性结实(parthenocarpy)。因为单性结实会产生无籽果实,所以在生产中具有重要的应用价值。例如生产中经常使用生长素类物质处理茄科植物(如番茄、辣椒)、葫芦科植物(黄瓜、南瓜等)以及柑橘等,一方面可以促进座果,另一方面还可以用来生产无籽果实。

关于生长素与果实发育的经典试验是 1950 年 J. P. Nitsch 利用草莓进行的。草莓的种子是一种瘦果,附生在膨大的花萼上。Nitsch 发现去掉草莓的种子会抑制果实的膨大,利用生长素处理又会恢复果实的正常生长,这是因为种子是促进果实膨大的生长素供应源。

另外,生长素还被用来控制果实的脱落。根据应用时间和应用浓度的不同,生长素既可以促进坐

果早期果实的脱落，也可以防止未成熟果实的脱落。利用生长素处理促进坐果早期果实的脱落在生产上是一种化学疏果技术，用来防止坐果过密，有利于剩下的果实发育成大果；利用生长素处理防止未成熟果实的脱落，可以保证果实正常成熟，增加产量。

在生长素对植物花和果实发育影响的研究中，发现在很多情况下，生长素的许多生理作用，与生长素诱导产生的乙烯有关，特别是高浓度生长素产生的抑制作用，多数是乙烯的效应。反过来乙烯的许多生理效应可以由生长素产生。例如前面讨论过的生长素对根生长的抑制以及生长素对花性别控制等效应，都可以用生长素和乙烯之间的相互作用来解释。

生长素的生理作用几乎贯穿了植物的整个生长发育过程。上面我们仅仅讨论了生长素的一部分的生理作用，另外一些生理效应将在其他章节中讨论。例如导致生长素发现的生理效应——生长素促进植物向性生长的效应，如向光性生长、向地性生长等现象将在第十五章中讨论；生长素还是控制植物顶端优势的主要因子。

# 第三节 赤 霉 素

赤霉素(gibberellin，GA)作为植物激素的地位是在20世纪50年代确立的，到目前为止，在微生物和高等植物中已经发现的赤霉素类物质有118种。赤霉素的典型生理作用就是显著地促进植物茎节的伸长生长，并在从种子萌发到开花结果等植物的各种生理现象中扮演重要的角色。赤霉素的生物合成具有明显的器官特异性，并受发育阶段的控制；研究中大量的赤霉素突变体植物和现代分子生物学手段的应用，极大地促进了人们对赤霉素生物合成及其生理作用机制的认识。

## 一、赤霉素的发现

赤霉素最早是由日本科学家发现的。在水稻育苗过程中，有一种称为“恶苗病”的病害，表现为植株异常细高，移栽后不易成活或者难以结实。植病学家通过研究发现这种病状是由一种称为赤霉菌(*Gibberella kujikuroi*)的病原菌分泌的某种化学物质诱导发生的。后来从这种病原菌培养物过滤液中分离纯化了这种物质，并被命名为赤霉素(gibberellin)。

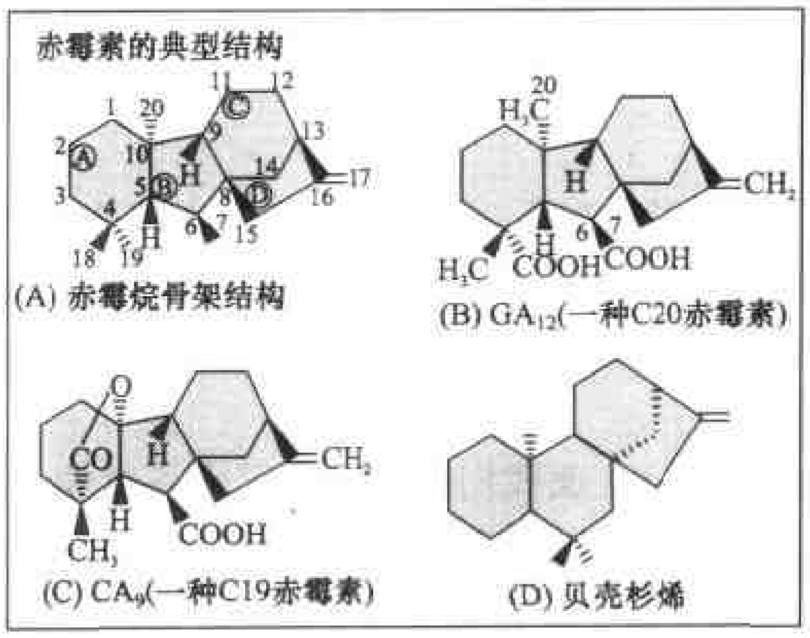
1958年，Jake MacMillan从菜豆(*Phaseolus coccineus*)的未熟种子中纯化了赤霉素，这是第一例从高等植物中提纯的赤霉素，被命名为赤霉素$A_1$(gibberellin $A_1$，图12-14E)。植物材料中的赤霉素含量非常低，即使赤霉素水平较高的菜豆未熟种子中，也才有大约十亿分之几的含量。

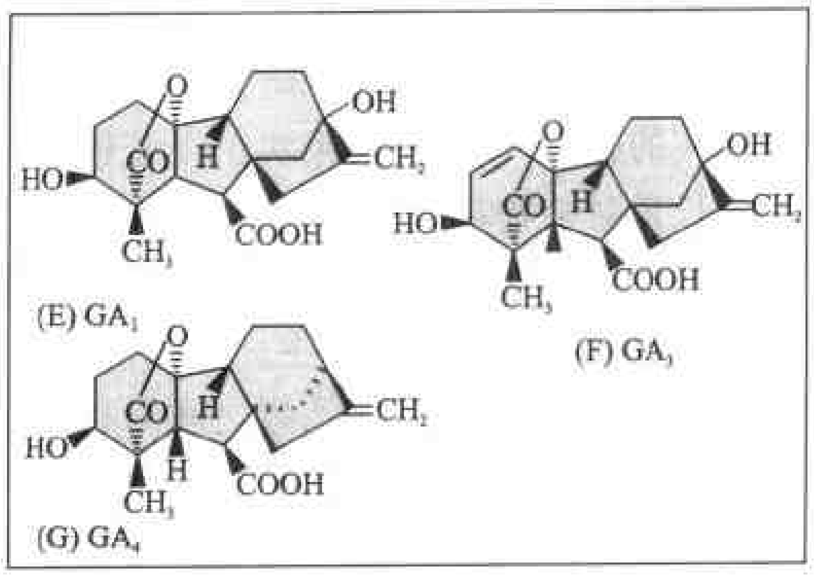
随着微生物和高等植物中越来越多的赤霉素类化合物被鉴定，它们被命名为GAx，其中x是数字序号，和结构以及代谢顺序没有关系，只表示该赤霉素被发现的顺序。到本书写作之时已经有$GA_1$～$GA_{118}$共118种赤霉素类物质得到了结构鉴定。尽管发现的赤霉素数量巨大，但是研究表明，植物中只有少数几种赤霉素具有生物活性，其他都是活性赤霉素生物合成中间产物或者是代谢产物，不具备直接生物活性。

## 二、赤霉素的结构及其分类

### (一) 赤霉素的结构和分类

赤霉素是一类双萜酸化合物，都有一个基本的骨架结构——赤霉烷(ent-gibberellane，图12-14A)其中部分赤霉素具有赤霉烷所有的20个碳原子，称为C20-GA(图12-14B)，另一部分赤霉素在代谢反应中失去一个碳原子，只有19个碳原子骨架，称为C19-GA，因为19位碳原子上的的羧基与10位碳形成一个内酯桥(图12-14C)，以这两种基本结构为基础，通过C20氧化状态的不同以及环上羟基数



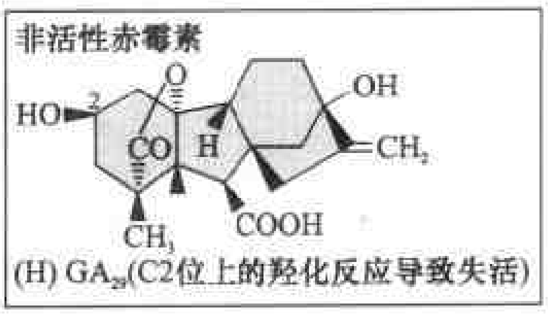




图 12-14　赤霉素的化学结构

目、位置及手性的不同，形成了赤霉素分子结构的多样性。

### （二）活性赤霉素、非活性赤霉素及其结构特征

活性赤霉素有若干结构特征：①几乎所有有活性的赤霉素都有 7 位碳原子上的羧基，这也是活性赤霉素必需的结构特征；②C19-GA 的相对生物活性比 C20-GA 要高；③3β-羟基、3β,13-二羟基或 1,2 不饱和键是赤霉素具有最高生物活性的特征，如 $GA_1$、$GA_4$、$GA_3$、$GA_7$、$GA_{32}$ 等（图 12-14E、F、G）；④具有 2β-羟基的赤霉素不具备生物活性，实际上 2β-羟基的引入是植物使赤霉素非活化的调节机制，例如 $GA_{29}$（图 12-14H）。

## 三、赤霉素的生物合成和代谢

### （一）赤霉素生物合成的三个阶段

**1. 赤霉素生物合成的前体**

赤霉素生物合成和其他萜烯类化合物合成途径相似（见第九章），也是由五个碳原子的异戊二烯（isoprene）作为基本结构单位进行的，四个异戊二烯基本结构单位头尾相连形成了具有四个闭环的赤霉素基本构造。生物合成中的异戊二烯单位是异戊烯基焦磷酸（IPP）。以前认为类萜烯生物合成的直接前体是甲瓦龙酸（mevalonic acid），但是最近发现存在着两条类萜烯的合成途径：甲瓦龙酸依赖型和非甲瓦龙酸依赖型。前者存在于细胞质中，主要参与甾类化合物的生物合成；后者存在于叶绿体中，主要参与胡萝卜素及其类似物的生物合成。因为赤霉素主要是在前质体中合成的，所以赤霉素生物合成中 IPP 可能不是由甲瓦龙酸衍生而来的，而是由 3-磷酸甘油酸和丙酮酸衍生而来的。

无论 IPP 的来源如何，类萜烯的后继合成步骤在细胞质和质体中都是相同的，即由异戊二烯基焦磷酸生成 10 碳的牻牛儿基焦磷酸（GPP），然后是 15 碳的法尼基焦磷酸（FPP），最后生成 20 碳的牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸（GGPP）（图 12-15）。

**2. 赤霉素生物合成的三个步骤**

经过从 IPP 到 GGPP 的类萜烯合成的共同步骤之后，赤霉素的生物合成可以分为以下三个步骤，并且分别在细胞内的不同部位进行（图 12-16）。

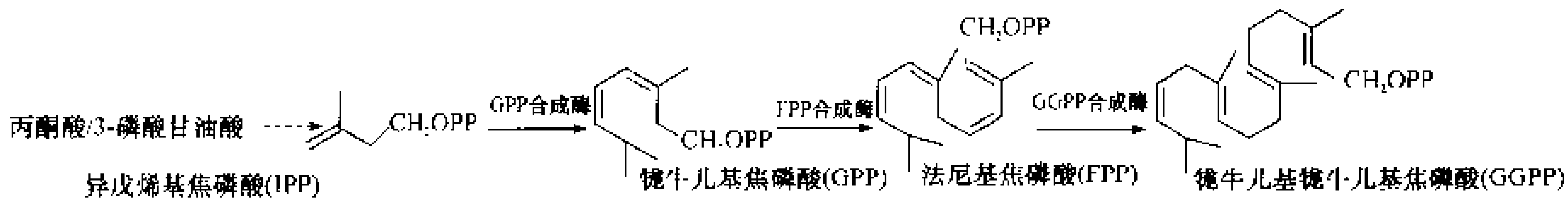



图 12-15 前体物 GGPP 的合成

(1) *步骤一：环化反应生成贝壳杉烯* 环化反应是指将 GGPP 转变成 ent-贝壳杉烯(ent 前缀是指的贝壳杉烯的对映体立体构型)。该环化反应是在赤霉素生物合成步骤中特有的反应。这个步骤由两步环化反应组成(图 12-16)，参与催化这两步反应的酶——贝壳杉烯合成酶分布在前质体内，但在成熟叶绿体中不存在。一些植物生长延缓剂如 AMO1618、矮壮素和福斯方 D 都是赤霉素合成环化步骤的特异抑制剂。

(2) *步骤二：氧化反应生成 $GA_{12}$醛* 在赤霉素生物合成的第二个步骤里，首先贝壳杉烯上的甲基被连续氧化形成羧基，中间产物分别是贝壳杉烯醇、贝壳杉烯醛和贝壳杉烯酸，然后 B 环从一个 6 碳环缩为 5 碳环，最后形成 $GA_{12}$醛。$GA_{12}$醛是植物体内形成的第一个赤霉素，也是植物体内所有赤霉素的共同前体(图 12-16)。参与上述系列氧化反应的酶是一种含细胞色素 P450 的单加氧酶(monooxygenase)。该酶分布在内质网上，将由前质体转移到内质网里的贝壳杉烯转化为 $GA_{12}$醛。多效唑(paclobutrazol)以及其他抑制 P450 单加氧酶的特异抑制剂都会抑制赤霉素生物合成的第二步骤。

(3) *步骤三：由 $GA_{12}$醛形成所有其他的赤霉素* 在高等植物体内，赤霉素生物合成第三步骤的第一步反有两个方向，一个是将 $GA_{12}$醛氧化形成 $GA_{12}$，另一个是在 $GA_{12}$醛的 13 位碳上的羟化反应(图 12-16)，形成 $GA_{53}$醛。根据第一步反应中 C13 羟化反应的有无，可以将赤霉素生物合成的第三步骤分为两条途径：早期 C13 羟化途径(early-13 hydroxylation pathway)和早期 C13 非羟化途径(early-13 nonhydroxylation pathway)。这两条途径分别合成两种在植物体内具有最高活性的赤霉素，前者合成的最终活性赤霉素为 $GA_1$，后者合成的最终活性赤霉素是 $GA_4$。关于这两条途径的生理学意义及其与植物生长发育的关系，我们将在下面叙述。

在早期 C13 非羟化途径中，催化 $GA_{12}$醛到 $GA_{12}$的氧化反应的酶有两种，一种是分布在内质网上的单加氧酶，另一种是分布在细胞质内的双加氧酶。但是催化 $GA_{12}$以后反应步骤的酶都是细胞质中可溶性的双加氧酶。这些酶需要 2-酮戊二酸和分子氧作为辅助基质，同时需要 $Fe^{2+}$和抗坏血酸作为辅酶。

在早期 C13 羟化途径中，$GA_{53}$通过 20 位碳的连续氧化转变为 $GA_{19}$，然后 20 位碳上发生脱羧反应产生 $GA_{20}$。上述一系列发生在 20 位 C 上的氧化反应，都是由一个单一的多功能酶 GA20 氧化酶(GA20-oxidase)所催化。$GA_{20}$在 3β-羟化酶的催化下转化为具有生物活性的赤霉素 $GA_1$。最后，$GA_1$通过 2β-羟化反应引入 2β 羟基转变成没有生物活性的 $GA_8$，另外，$GA_{20}$也可以通过 2β-羟化反应转化为 $GA_{29}$，$GA_{29}$不能回归到正常的活性赤霉素 $GA_1$的合成途径。

因为赤霉素生物合成第三个步骤的关键酶是以 α-酮戊二酸作为辅助基质的双加氧酶和 3β-羟化酶，所以凡是能够抑制这些酶活性的抑制剂都能抑制活性赤霉素的合成。这类生长延缓剂的一个典型代表就是 prohexadione(BX-112)，它能够特异地抑制 β-羟化反应，所以可以阻碍 $GA_{12}$转化为 $GA_1$，但同时也可以阻碍造成 $GA_1$失活的 2β-羟化反应。

## (二) 赤霉素生物合成的器官特异性

高等植物中不同的器官组织、不同发育阶段内起调节作用的赤霉素种类不同，相应的生物合成途

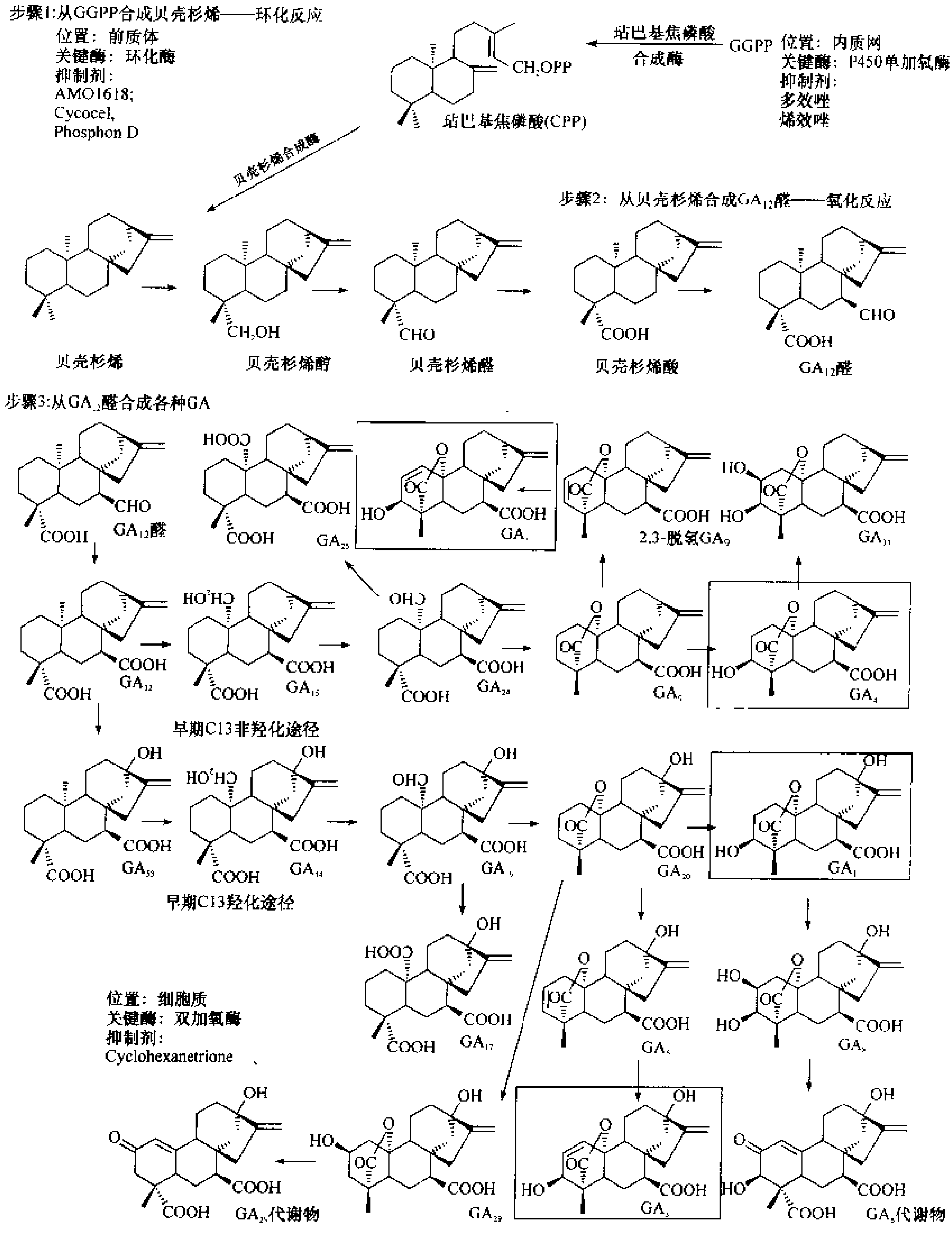



图12-16　赤霉素生物合成途径(方框内为有活性的赤霉素分子结构)

径也不尽相同，也就是说，赤霉素生物活性及其生物合成具有器官特异性。

$GA_1$是控制植物茎节伸长生长的惟一的活性赤霉素。植物株高的控制主要是由其内源活性赤霉

素 $GA_1$ 水平决定的，即控制株高的基因主要是通过改变内源赤霉素 $GA_1$ 合成水平来控制株高的。在同基因豌豆植株中，高杆植株含有 *Le* 等位基因，而矮化植株含有等位基因 *le*，这对等位基因控制着豌豆植株的株高。这是因为 *Le* 基因编码催化 $GA_{20}$ 转化为 $GA_1$ 的 3β-羟化酶，而 le 变异不能编码具有活性的 3β-羟化酶，不能合成 $GA_1$，所以植株发生矮化。如图 12-17 所示，$GA_1$ 合成缺陷的 *le* 矮化豌豆的成熟植株高约 3～5cm，而 *Le* 植株高约 15cm。但是由于变异基因存在"泄漏"现象（即变异的基因有时具有部分活性），所以在 *le* 豌豆植株中也含有少量的内源 $GA_1$，导致植株具有不同的高度，不过这些植株的高度都与其内源 $GA_1$ 的含量成正相关。另外，有一种极端矮化的豌豆突变体 *na* 突变体，该突变体的赤霉素合成途径中从贝壳杉烯到 $GA_{12}$ 醛的转化受到了完全的抑制，所以这种突变体中几乎不含赤霉素，所以成熟植株的株高大约只有 1cm。

上述试验事实表明，$GA_1$ 是豌豆株高的控制因素，同样的结论也适用于玉米和水稻。

虽然在某些植物种类中，$GA_4$ 也是一个促进营养生长的活性赤霉素，但是大量的试验证明，$GA_4$ 更多是在植物的生殖生长中起着调节作用。图 12-18 显示的是水稻穗分化过程中内源 $GA_4$ 水平的变化情况，表明随着生殖生长的进行，$GA_4$ 含量逐渐增加，研究还表明，水稻花粉中存在着大量的 $GA_4$，但是 $GA_1$ 的含量甚微，相反地，水稻



| 表现型 | 高度矮化 | 矮化 | 高杆 | 极高杆 |
|---|---|---|---|---|
| 激素含量 | 不含 GA | 含 $GA_{20}$ | 含 $GA_1$ | 不含 $GA_1$ 含高水平生长素 |
| 基因型 | *na* | *Nale* | *NaLa* | *Lacrys* |

图 12-17 豌豆的基因型、表现型和赤霉素含量之间的关系
（Taiz & Zeiger 1998）

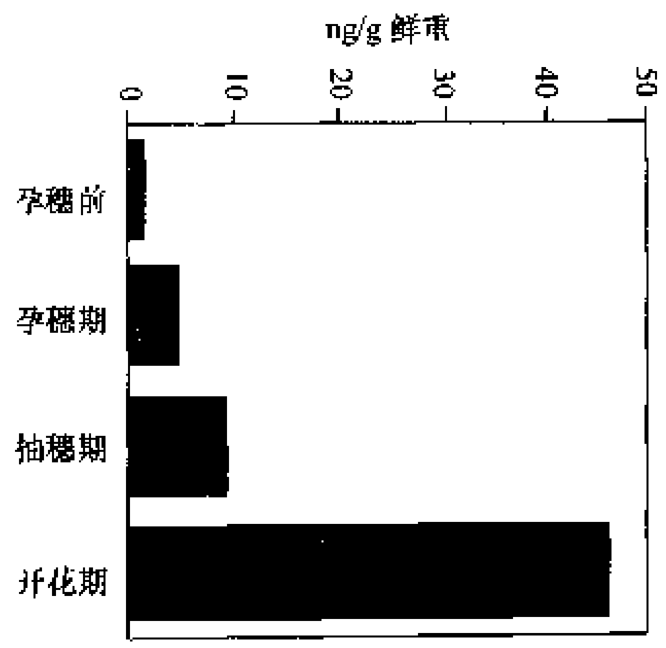



图 12-18 水稻（品种：日本晴）在不同发育阶段内源赤霉素 $GA_4$ 含量的变化

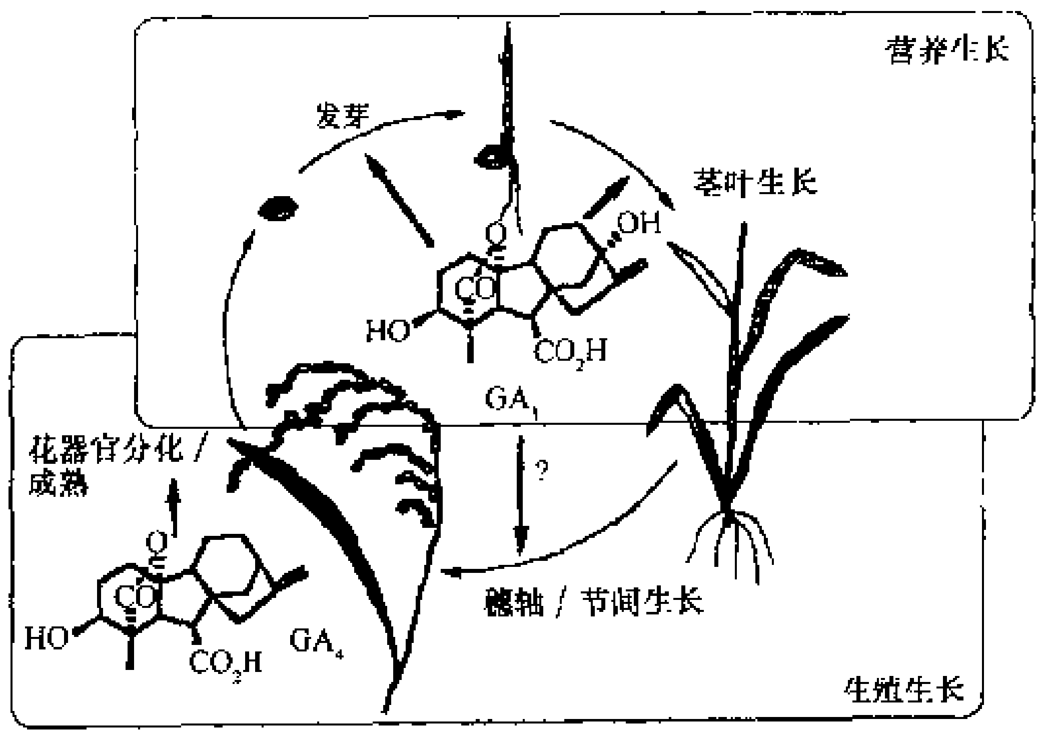



图 12-19 水稻不同生长阶段活性赤霉素的器官特异性作用示意图

茎节中含有大量的$GA_1$、而$GA_4$含量甚微；细致的定性定量分析证明水稻的营养生长阶段，赤霉素的生物合成主要是合成$GA_1$的早期C13羟化途径，在水稻的生殖生长阶段，赤霉素的生物合成又增加了合成$GA_4$的早期C13非羟化途径。这些试验现象表明，$GA_4$在植物生殖生长过程中起着关键的调节作用。

关于赤霉素生物合成及其生理作用的器官特异性，目前可以勾勒出这样一种图像(图12-19)，早期C13羟化途径及其合成的$GA_1$主要存在于植物的营养生长阶段和营养器官中，起着促进茎叶生长的调节作用；早期C13非羟化途径及其合成的$GA_4$主要存在于植物的生殖生长阶段和生殖器官中，起着促进花果发育和生长的调节作用。

## （三）赤霉素合成部位和运输

赤霉素合成最活跃的植物器官是发育中的种子和果实。种子成熟后其中的活性赤霉素水平几乎为零，但是成熟种子中含有大量的$GA_{12}$醛，作为赤霉素的前体，可能在未来种子萌发过程中转化为活性赤霉素。

对豌豆幼苗的分析表明，在幼芽、幼叶和上部茎节内赤霉素含量最高，而且也是赤霉素的合成部位。在茎中合成的赤霉素可以通过韧皮部运输到植株的其他部分。

赤霉素合成途径的某些步骤可以在一些组织内进行，合成的赤霉素前体又可以运输到其他组织内代谢为活性赤霉素。例如，成熟叶绿体内不能进行赤霉素合成的第一步骤，即从GGPP到贝壳杉烯的合成，也就是说，成熟叶片的叶肉细胞不能进行贝壳杉烯的合成，但是却可以进行赤霉素第三步骤的合成，其前体就是从茎的分生组织转移而来，并在叶片中被转化为活性赤霉素。

虽然赤霉素在根系分泌物和根提取液中存在，但是目前尚没有确切证据说明根系可以合成赤霉素。

## （四）赤霉素生物合成的调控

在植物生长发育过程中，赤霉素在介导环境因素的作用方面起着重要的作用。许多环境因子，例如光周期、温度可以影响赤霉素生物合成的某些特定步骤来调节体内赤霉素水平。另外，赤霉素对自身的合成具有反馈调节作用。

**1. 光周期的调节作用**

试验发现长日植物(参见第十五章)从短日照条件变换到长日照条件时，体内赤霉素的代谢会发生变化。例如菠菜(*Spinacia oleracea*)在短日照条件下其植株呈短缩茎的莲座状，其中的赤霉素早期C13羟化途径的活性很弱。随着日照长度的增加，菠菜植株的茎节逐渐开始伸长，体内的早期C13羟化途径的活性也逐渐增加，增加日照长度4天后，植株体内该途径的中间产物($GA_{53}$、$GA_{44}$、$GA_{19}$、$GA_{20}$、$GA_1$和$GA_8$)的水平开始升高，到第12天，其中$GA_{20}$的水平可以增加16倍，$GA_1$的水平可以增加5倍，从而刺激了茎节的伸长生长。长日照可能是通过增加GA20氧化酶的活性促进$GA_1$合成的。

**2. 温度的影响**

在后面章节中我们将会了解到，某些植物种子的萌发和某些植物的开花需要低温处理才能实现，例如甜菜(*Thlaspi arvense*)需要一个较长时间的低温处理之后，茎节才能开始伸长并开花。这种低温处理可以用赤霉素处理代替，说明低温处理与植株体内赤霉素具有某种关系。实际测定发现，在没有低温处理的情况下，茎尖内积累了大量的贝壳杉烯酸，而低温处理之后，贝壳杉烯酸7β-羟化酶的活性升高，贝壳杉烯酸被转化为$GA_9$，$GA_9$又是促进生殖生长的活性赤霉素$GA_4$的直接前体。需要指出的是茎尖是植物感受低温的部位，所以推测在茎尖中低温可以通过影响组织内赤霉素的代谢来影响茎节伸长和开花等生理反应。

**3. 反馈控制**

一些 GA 不敏感突变体植物，例如玉米 *d8* 突变体和拟南芥 *gai* 突变体，体内经常积累有异常高水平的 $GA_{20}$ 和 $GA_1$，但是它们的前体物 $GA_{19}$ 的水平却非常低，这可能是赤霉素通过反馈控制（feedback control）的方式（亦称反馈抑制），例如产生某些转录抑制因子抑制赤霉素合成酶类的合成来抑制赤霉素自身的合成。

研究发现，在 GA 不敏感突变体植物中发生高水平积累的赤霉素主要是 C19-GA，所以 GA 20 氧化酶可能是反馈抑制所调节的关键酶。通过测定拟南芥 *gai* 突变体中三个编码 GA 20 氧化酶基因的转录水平，发现如果赤霉素生物合成的早期阶段发生突变[例如催化 GGPP→CPP 的 ent-玷玔基焦磷酸合酶（ent-copalyl pyrophosphate synthase）发生变异]，体内 GA 水平极低，*gai* 突变体内的 GA20 氧化酶基因转录水平不受抑制，处于正常的转录状态；但是用外源 $GA_3$ 处理突变体植株后，所有三个 GA20 氧化酶基因的转录都受到了抑制。可见赤霉素生物合成中 GA20 氧化酶基因的转录是受体内活性 GA 水平的反馈控制的。研究还发现赤霉素生物合成途径中的其他酶类，如 3β-羟化酶等也可能受到反馈控制的调节。

## （五）赤霉素的代谢

赤霉素的失活代谢主要是 2β-羟化反应，该反应使活性赤霉素以及活性赤霉素前体不可逆地失去生物活性。和其他植物激素一样，赤霉素的结合物的形成和水解也是调节其在植物组织内水平的一个重要手段，当然，赤霉素结合物也同样有储存和运输的功能。

赤霉素结合物主要是通过赤霉素的羧基和单糖结合形成的赤霉素糖酯，或者通过羟基和单糖形成赤霉素糖苷；其中的单糖多数是葡萄糖。赤霉素结合物在一些植物种子中含量比较丰富。如果赤霉素大量施用到植株上，其中相当一部分会被转变为糖基结合物，所以可以认为糖基结合物的形成是赤霉素失活代谢的一种方式；另外，将赤霉素糖苷引入植物后会被水解为游离的赤霉素，所以，赤霉素结合物可能也是一种储存形式。

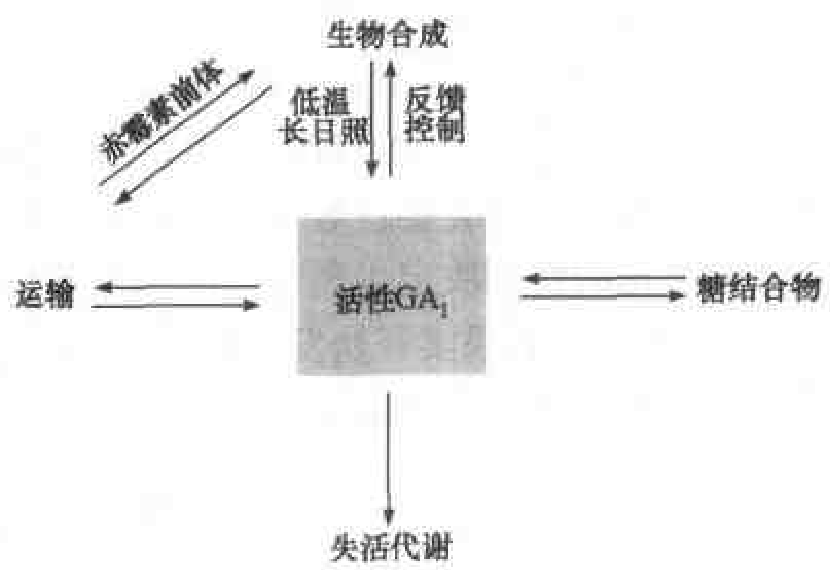


图 12-20　植物体内赤霉素 $GA_1$ 水平的影响因素

植物体内调节活性赤霉素水平的机制如图 12-20 所示，活性赤霉素如 $GA_1$/$GA_4$ 的合成除了受生长发育状态的影响之外，还受一些环境因子如低温和长日照的促进；赤霉素对自身的合成也具有反馈调节作用，体内赤霉素的水平可以通过失活代谢和结合物的形成/降解来调节；最后，器官之间赤霉素及其前体的转移运输也可以起到调节的作用。

# 四、赤霉素的生理效应

## （一）赤霉素促进植物茎节的伸长生长

施用外源赤霉素可以促进许多植物的茎节伸长生长，这种促进作用在矮化植物、莲座植物和一些禾本科植物上表现得尤其明显。赤霉素促进植物茎节伸长的同时，可能会导致茎干直径减小、叶片变小、叶色变浅。和生长素促进的伸长生长相反，赤霉素能显著促进整株植物的伸长生长，尤其是能够大幅度促进矮化植物的茎节伸长生长，但是对离体茎切断的伸长生长几乎没有影响。

一些十字花科植物如菠菜、胡萝卜等，在短日条件下呈现短缩茎的莲座状形态，只有在长日条件下才抽薹开花。试验证明，施用外源赤霉素可以使短日条件下的这类植物抽薹开花，而且自然条件下

的抽薹开花也是受内源赤霉素调节的。另外，某些需要低温处理才能抽薹开花的植物，也可用赤霉素处理来代替低温处理(参见第十五、十六章)。

赤霉素促进禾本科植物茎节的伸长生长效果非常显著，其作用的靶组织是茎节的居间分生组织。关于赤霉素促进茎节伸长生长的作用机制，我们将在下一章以深水水稻为例作详细的介绍。

虽然赤霉素可以显著促进植物茎的生长，但是赤霉素对植物根系的生长促进效果很小甚至没有。

### (二) 赤霉素调节植物幼态和成熟态之间的转换

许多多年生的木本植物，具有幼态和成熟态两个生长发育阶段(参见第十七章)，幼态植物不能开花，只有达到一定年龄，进入所谓的成熟态后才能对光照或低温发生反应，被诱导开花结实。通常幼态植物与成熟态植物具有不同的叶片形态。根据植物种类的不同，外源施用赤霉素可以控制植物在幼态和成熟态之间的转变。例如，$GA_3$可以诱导常春藤(*Hedera helix*)从成熟态转变为幼态；赤霉素$GA_4+GA_7$处理可以诱导许多幼态的针叶植物进入成熟态，但是在这个试验中$GA_3$处理没有效果。

### (三) 赤霉素可以影响花芽分化和性别控制

赤霉素在决定雌雄异花植物花的性别上具有重要的意义，因为许多环境因素对植物性别的影响可能是通过影响赤霉素来实现的。例如，玉米的雄花在顶穗上，而雌花主要在果穗上。短日照和低温处理可以大幅度增加玉米植株体内的赤霉素含量，特别是使果穗内多种赤霉素的水平上升100倍，同时诱导果穗花发育为雌性花。施用外源赤霉素同样会诱导果穗雌花的发育。对玉米突变体的研究表明，如果赤霉素生物合成或信号传递过程发生突变，果穗上会有大量的雄花发育。可见赤霉素对玉米花性别决定的主要作用是抑制雄花发育。

但是在一些双子叶植物上，赤霉素似乎有相反的作用。外源赤霉素会促进雄花的形成，而赤霉素生物合成抑制剂可以促进雌花的发育。在花的性别决定上，许多植物激素，如生长素、乙烯都有调节作用，例如乙烯同样会促进雌花发育，抑制雄花的发育，所以GA也可能是通过和这些激素的相互作用，共同在花的性别决定生理过程中起调节作用。

坐果是受精后果实开始发育的过程，我们已知生长素可以促进这个过程，但是一些坐果不受生长素影响的植物，如苹果(*Malus sylvestris*)，施用外源赤霉素具有促进坐果的作用。

### (四) 赤霉素打破休眠促进种子发芽

赤霉素在种子萌发过程中有多方面的作用，例如赤霉素可以刺激胚芽的营养生长，赤霉素还可以松弛围绕在胚周围的胚乳层细胞，降低对胚生长的压迫；最重要的是，赤霉素可以诱导水解酶的合成，分解种子储存的营养物质。对于一些需要光照或低温处理才能打破休眠开始萌发的种子，常常可以用赤霉素处理代替光照或低温打破休眠。所以赤霉素在种子休眠打破和萌发过程中，是一个介导外界环境因子的调节因素。

在萌发的谷类种子糊粉层中，赤霉素诱导合成许多水解酶，如α-淀粉酶、蛋白酶等，赤霉素的这个生理效应被广泛地应用在酿造工业中。

## 第四节　细胞分裂素

细胞分裂素是在研究植物组织培养中促进细胞分裂因子的过程中发现的。细胞分裂素不仅促进细胞分裂，而且在其他多种生长发育过程中，如抑制叶片衰老、吸引养分运输、顶端优势、芽休眠打破、花及果实发育以及种子发芽等，都起着重要的生理调节作用。另外，细胞分裂素还参与光调节的一些

生理过程，包括叶绿体分化、植物子叶扩张以及自养代谢的发育等。

## 一、细胞分裂素的发现

在20世纪40年代和50年代，植物组织培养被广泛地用来研究细胞的分裂和分化。当时美国威斯康星大学著名的植物生理学家F. Skoog利用烟草茎段的髓部组织作为外植体研究植物组织培养的营养需要。在试验中他们发现，凡是含有维管束的外植体在含有生长素的培养基上比较容易分裂增殖，形成愈伤组织；相反没有维管束的外植体则只有细胞扩大，却没有细胞的分裂发生。后来发现植物维管组织、椰乳和酵母提取液都有促进细胞分裂的作用。

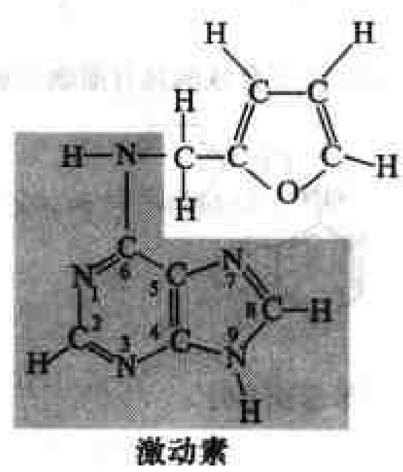



图 12-21　激动素的分子结构

1956年，Miller在加热灭菌过的鲱鱼精子DNA提取物中发现了一种具有促进细胞分裂活性的小分子化合物，他们将其命名为激动素(kinetin)(图12-21)，并证明激动素是一种腺嘌呤衍生物——6-呋喃氨基腺嘌呤。试验证明激动素可以促进不含维管束组织的烟草茎髓部外植体在含有生长素的培养基上分裂增殖。1965年，Skoog等建议使用"cytokinin"(中文译名为细胞分裂素)作为具有刺激细胞分裂属性的生物活性物质的名称。激动素并不是自然存在的植物激素，而是DNA加热降解后生成的副产物，但是激动素的发现启发人们探索植物体内与其结构相似的促进细胞分裂的物质。

Miller和澳大利亚的D. S. Letham各自独立地证明在玉米未熟种子的胚乳中含有与激动素生物活性类似的化学物质，经鉴定其结构为trans-6-(4-hydroxy-3-methylbut2-enylamino)-purine，并被命名为玉米素(zeatin)(图12-22)。玉米素的化学结构与激动素类似，都是腺嘌呤的衍生物。进一步的研究证明玉米素是在植物和细菌中存在最普遍、最丰富的一种细胞分裂素。其他已经分离纯化的取代腺嘌呤类的细胞分裂素如图12-22所示。

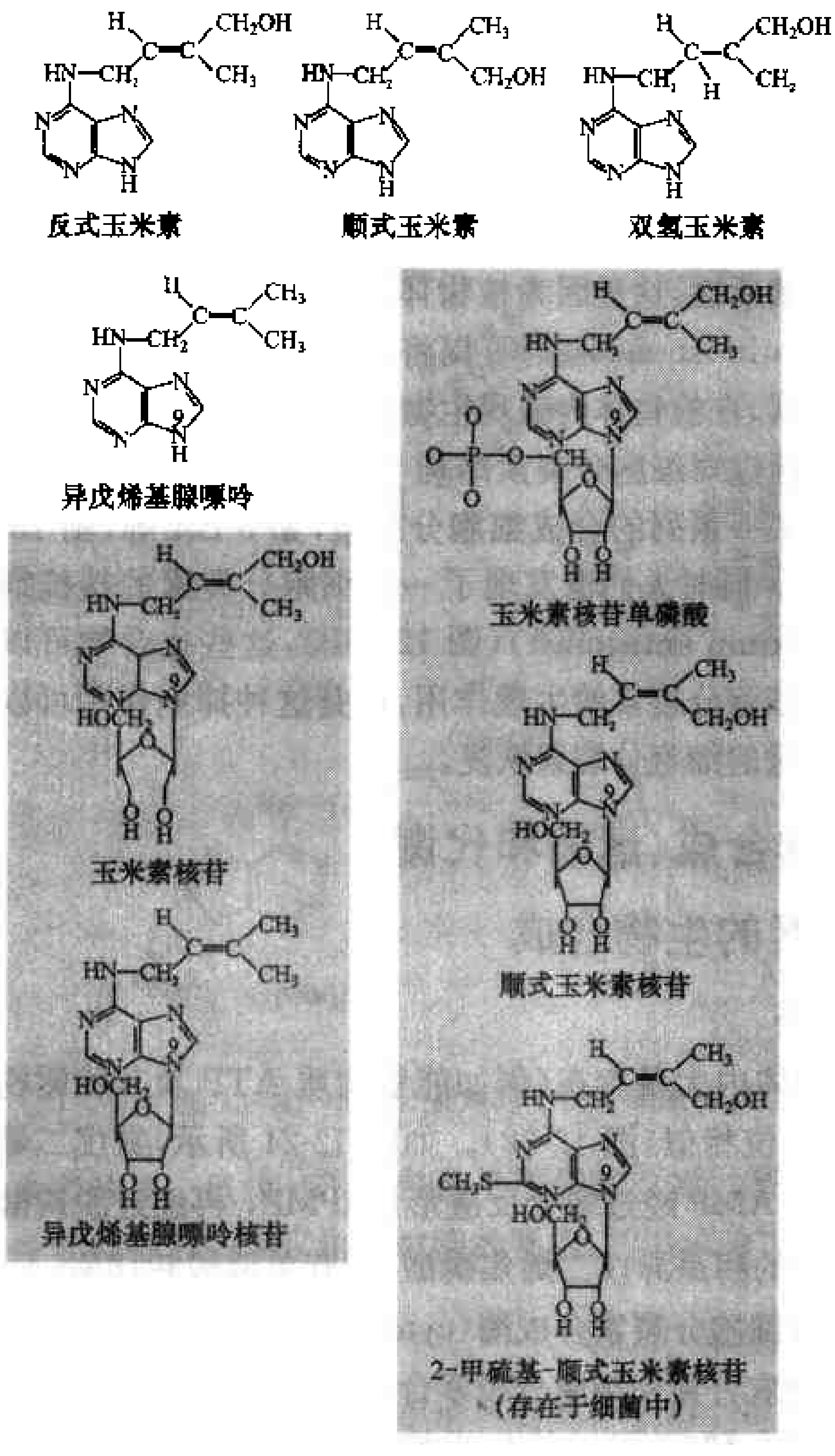



图 12-22　几种天然细胞分裂素的分子结构

大部分植物中细胞分裂素以反式玉米素为主，兼有少量的双氢玉米素和异戊烯基腺嘌呤；核苷形式的细胞分裂素必须解离为游离的配基形式才具有生物活性。

细胞分裂素被定义为具有与反式玉米素具有相同生物活性的物质，即：①在生长素存在的条件下，诱导愈伤组织细胞分裂；②在与生长素具有适当比例的前提下促进愈伤组织不定芽的发生；③能延迟叶片的衰老；④促进双子叶植物幼苗子叶的扩大。

## 二、细胞分裂素的结构和分类

自然发生的细胞分裂素具有相似的结构，

都是 N-6-取代氨基腺嘌呤，不同的细胞分裂素之间的差异在腺嘌呤 6 位或 2 位上取代基的不同(图 12-22)。

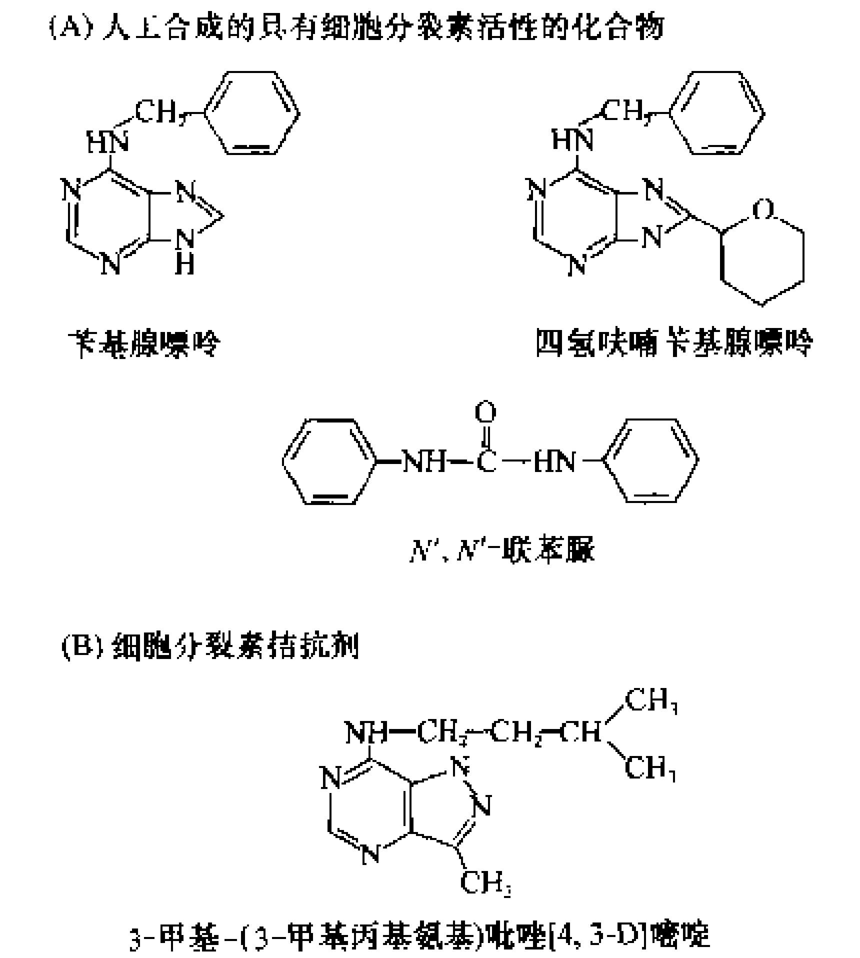



图 12-23 合成细胞分裂素及细胞分裂素拮抗剂的结构

(A)合成细胞分裂素类化合物除了腺嘌呤衍生物之外，联苯脲类化合物及其衍生物也具有相当强的细胞分裂素活性；(B)嘌呤环被修饰后表现细胞分裂素拮抗剂活性，可能是因为其竞争性地与细胞分裂素受体结合，从而阻断了细胞分裂素的活性。

根据取代基的差异，植物中常见的细胞分裂素可以分为玉米素、双氢玉米素(dihydrozeatin, DHZ)、异戊烯基腺嘌呤(isopentenyl adenine, iPAde)；这些细胞分裂素在植物体内的存在形式除了游离配基之外，还可能以核糖核苷(riboside)形式(嘌呤环 9 位 N 原子上结合核糖基团)、核糖酸(ribotide)形式(核糖基团被一磷酸酯化)，或配糖体形式(glycoside)(一个糖基结合在嘌呤环上的 7 位或 9 位的 N 原子，或者结合在玉米素和双氢玉米素侧链的氧原子上)存在(图 12-22)。应该强调的是，具有激素活性的细胞分裂素是游离形式的配基，而不是结合物形式。

玉米素是自然界存在最丰富的一种细胞分裂素，它的侧链因为具有一个不对称的不饱和键，所以具有顺式和反式两种构型，植物体内自然存在的玉米素都是反式的，但是顺式玉米素在生物测定中也具有细胞分裂素活性，这是因为植物体内存在一种玉米素异构酶(zeatin isomerase)，可以将顺式玉米素转化为反式玉米素，在植物体内表现生物活性。

通过对细胞分裂素结构与活性关系的研究，人们合成了一系列的合成细胞分裂素，如 6-BA 等(图 12-23A)。同时人们也发现了一些细胞分裂素的拮抗剂(cytokinin antagonist)(图 12-23B)，这些化合物可以抑制细胞分裂素的生理作用，但是这种抑制作用可以被过量的细胞分裂素恢复。

## 三、细胞分裂素的生物合成、运输和代谢

### (一) 细胞分裂素的生物合成

植物细胞分裂素的主要合成途径是从头合成途径(*de novo*)。细胞分裂素的核心结构腺嘌呤环在植物体内大量存在(例如能量物质 ATP 及其代谢物 AMP 等)，细胞分裂素的侧链结构与异戊二烯结构单位相似(图 12-22)。如图 12-24 所示，异戊二烯焦磷酸 $\Delta^2$-isopentenyl pyrophosphate ($\Delta^2$-IPP)和 5′-AMP 经过缩合反应形成 iPMP，再经过脱磷酸化形成 iPA，最后脱核糖形成 iP。催化上述缩合反应的酶是异戊二烯焦磷酸:腺苷单磷酸转移酶($\Delta^2$-isopentenyl-pyrophosphate: AMP transferase)，或称细胞分裂素合成酶(cytokinin synthase)，其本质是一个异戊二烯基转移酶(prenyl transferase)。根癌农杆菌中细胞分裂素合成酶的基因得到了克隆，但是该酶在植物材料中尚未得到提纯。从 iPMP、iPA 和 iP 可以转化为相应的玉米素核苷单磷酸(ZMP)、玉米素核苷(ZR)或玉米素(Z)，再进一步转化为相应的双氢玉米素核苷单磷酸(DHZMP)、双氢玉米素核苷(DHZR)和双氢玉米素(DHZ)(图 12-24)。

生物体内某些 tRNA 上有一些修饰的碱基具有细胞分裂素活性，例如一些植物 tRNA 含顺式玉

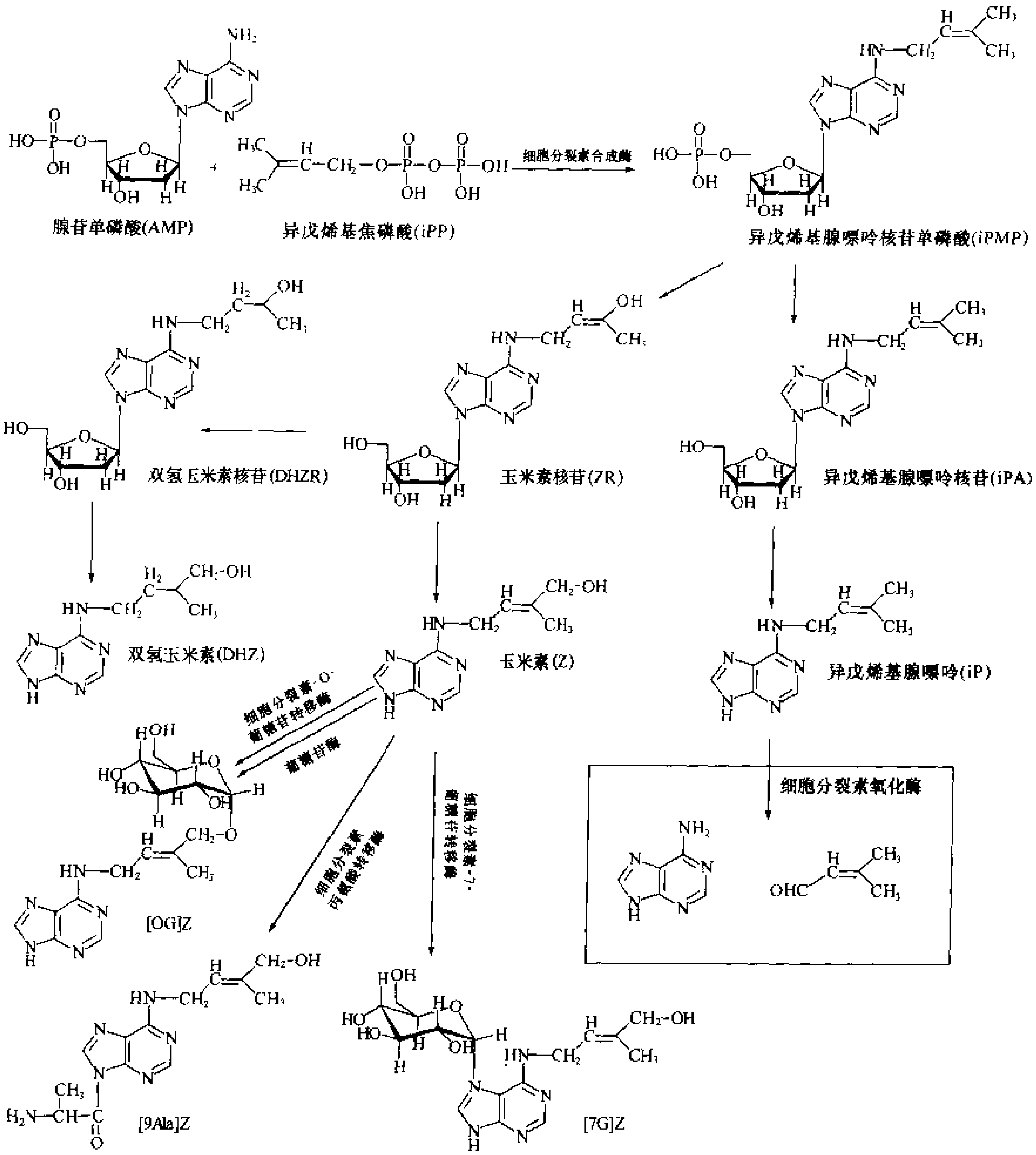



图 12-24 细胞分裂素的生物合成途径、细胞分裂素结合物的形成以及细胞分裂素的氧化降解

米素碱基。虽然 tRNA 细胞分裂素可以通过某种方式的降解释放出来，但是这种方式产生的细胞分裂素似乎不能满足植物细胞的要求，所以认为“tRNA 途径”并不是细胞分裂素的重要合成途径。

## (二) 细胞分裂素的运输

植物细胞分裂素的主要合成部位是根尖分生组织。根尖内合成的细胞分裂素通过导管液向上运输到植物地上器官发挥生理调节作用。

支持这个结论的有力证据是对植物伤流液内细胞分裂素的观察测定。试验中发现，将植物地上部切除，从断口处收集伤流液，经分析发现其中含有细胞分裂素，如果维持根部土壤的湿润，伤流液内

的细胞分裂素含量在好几天的时间内不会发生变化。这些现象说明细胞分裂素可能是在根系内合成的。另外，如干旱等影响根系活性的环境胁迫可以减少根系内细胞分裂素的合成。细胞分裂素在其他植物器官内也有少量合成，例如玉米幼嫩种子的胚乳中以及正在发育的叶片中都可以合成细胞分裂素。

细胞分裂素在导管液中的运输形式主要是玉米素核苷，到达叶片后可以降解为具有激素活性的游离形式的玉米素。玉米素核苷可以在种子和叶片中大量积累，甚至在衰老叶片中也可以有大量的玉米素核苷存在。玉米素核苷是一种结合物形式，不具备直接的生物活性。由于细胞分裂素依赖导管液运输，所以运输到叶片中的玉米素核苷以及在叶片或发育种子内合成的细胞分裂素不会转移到其他器官。

一个非常有趣的试验证实，根内细胞分裂素的合成以及从根向茎的细胞分裂素运输受地上部信号的调控。豌豆突变体 *rms4* 根系伤流液中的玉米素核苷水平比野生型低 40 倍，但是如果将野生型豌豆植株的地上部嫁接到 *rms4* 植株上，其根系伤流液内的玉米素核苷水平可以恢复到野生型水平；反过来如果把 *rms4* 植株的地上部嫁接到野生型豌豆植株的根系上，野生型豌豆根系伤流液内的玉米素核苷水平会下降到 *rms4* 突变体的水平。这些结果说明根系内细胞分裂素的合成和向上的运输受地上部信号的控制。

### （三）细胞分裂素的代谢

和其他植物激素一样，细胞分裂素的代谢包含两个方面的内容，即细胞分裂素结合物的合成和水解、以及细胞分裂素的降解。

游离细胞分裂素配基可以转化为相应的核苷和葡糖苷(图 12-24)。除了与糖结合外，细胞分裂素还可以与氨基酸结合。例如丙氨酸可以在 β 9-细胞分裂素丙氨酸转移酶的催化下结合到细胞分裂素嘌呤环的 9 位碳原子上形成[9Ala]Z(图 12-24)。

植物中存在葡糖苷酶，可以水解细胞分裂素葡糖苷结合物，例如在玉米中存在的一种葡糖苷酶，可以水解细胞分裂素葡糖苷结合物释放出游离的细胞分裂素(图 12-24)，玉米种子萌发初期生长发育所需的细胞分裂素是依靠细胞分裂素葡糖苷水解生成的。

植物组织中含有细胞分裂素氧化酶(cytokinin oxidase)，可以将玉米素、玉米素核苷或异戊烯基腺嘌呤核苷降解为腺嘌呤及其他衍生物(图 12-24)。细胞分裂素氧化酶可以使细胞分裂素失活，是调节体内细胞分裂素活性的重要途径，该酶的活性可以被高浓度的细胞分裂素所诱导。

细胞分裂素的活性形式是游离的配基形式，这些具有活性的细胞分裂素配基主要指反式玉米素、双氢玉米素或者异戊烯基腺嘌呤。其他非游离形式的细胞分裂素之所以能在生物测定试验中表现细胞分裂素活性，主要是因为它们或者可以较容易地转化为游离配基，或者可以水解释放出游离细胞分裂素，如细胞分裂素核苷和细胞分裂素葡糖苷。对于一些合成的细胞分裂素，如 6-氨苄基嘌呤(benzylaminopurine，BAP)，也是只有游离配基具有生物活性，而其结合物没有生物活性。

## 四、细胞分裂素的生理功能

### （一）转基因植物与细胞分裂素功能的研究

在植物体内存在着许多已知和未知的植物激素，任何一个生理过程都不会只受某一个植物激素的调节，植物激素之间具有复杂的相互作用的关系。这种相互作用的关系比较复杂，可以是两个或多个激素共同诱导一个生理反应(如我们将要讨论的生长素和细胞分裂素共同控制不定根/芽的分化)，也可以是一个激素诱导另一个激素的合成或释放，从而诱导某种生理反应(如我们上一节讨论过的生

长素诱导乙烯产生从而抑制根系生长)。所以,虽然我们用一种激素处理植物可以诱导某种生理现象的产生,但是除非我们能完全抑制植物体内既存的该激素以及其他激素的合成,或完全阻断其他激素的作用,否则我们很难判断该激素与发生的生理效应之间就一定存在着直接的和必然的联系。

细胞分裂素对植物生长发育过程的影响非常广泛,从基因水平、生理生化水平、细胞水平以至到整株发育水平都有深刻的影响。

细胞分裂素的生理作用主要是在研究转基因植物和细胞分裂素生物合成突变体的过程中揭示的(图 12-25)。农杆菌 Ti 质粒上含有 *IPT* 基因,编码异戊烯基转移酶,可以促进细胞分裂素的合成。将 Ti 质粒上的 *IPT* 基因导入植物,可以产生细胞分裂素过量合成的转基因植物,这些转基因植物表现出一系列的发育异常,而且这些异常的发育性质可以增加我们对细胞分裂素生理作用的了解。

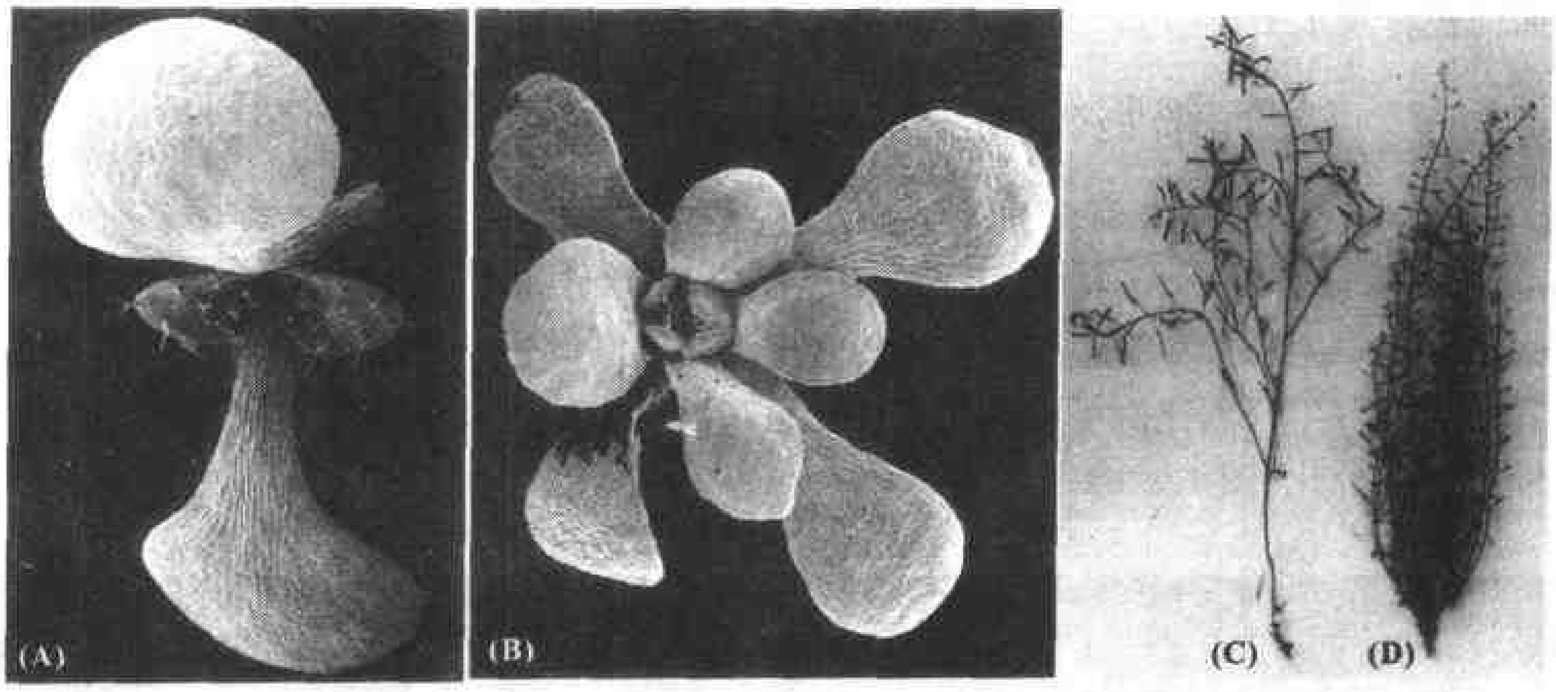



图 12-25　拟南芥的 *amp1* 突变体是一种细胞分裂素过量产生突变体(Taiz & Zeiger　1998)

同样是 7 日龄幼苗,(A),纯合型 *amp1* 突变体则有 4 片子叶(B),突变体具有较大的茎尖分生组织,在相同的时间里可以产生较多的叶片;突变体(D)具有较弱的顶端优势,比野生型植株(C)分支多。

## (二) 细胞分裂素促进细胞分裂和膨大

细胞分裂素就是从它在组织培养过程中能够与生长素配合,促进细胞分裂的现象中发现的。大量的试验证明,在细胞分裂周期中,生长素和细胞分裂素都是重要的调节因素,类似于动物细胞分裂中的生长因子(growth factor)的作用,它们通过对周期素依赖的蛋白激酶(cyclin-dependent protein kinese, CDK)活性的调节来调节细胞周期。

真核生物细胞周期的调节是由 CDK 及其调节亚基周期素(cyclin)共同进行的,即 CDK 必须和周期素结合才能发挥激酶活性,调节细胞分裂周期。植物细胞中一种主要的 CDK 蛋白质称为 CDC2 (cell division cycle),*CDC2* 基因表达受生长素的诱导和调节(参见第十三章)。在豌豆根组织中,生长素处理 10 分钟后就可以诱导 CDC2 mRNA 的表达,烟草髓部外植体在含有生长素的培养基培养可以诱导高水平的 CDK,但是,生长素诱导的 CDK 没有酶活性,而且仅有高水平的 CDK 也不足以诱导细胞分裂。

在拟南芥中,细胞分裂素促进 α3-周期素(α3-cyclin)基因的表达,α3-cyclin 是一种 $G_1$ 型周期素。另外,组织培养的外植体一般需要碳源供应,蔗糖可以刺激拟南芥外植体表达另外一种 $G_1$ 型周期素——α2-周期素。这样,一个处于静止状态的植物外植体,例如烟草髓部外植体,在生长素、细胞分裂素和蔗糖的共同作用下,使细胞内形成 CDK-$G_1$ 型周期素复合体,CDK 变为具有活性的激酶,启动细胞分裂从 $G_1$ 期进入 S 期。

除了诱导α3-周期素产生之外，细胞分裂素还可以通过控制磷脂酶的活性来调节CDC2激酶活性，影响细胞周期。在研究中发现，如果将培养烟草细胞的培养基中的细胞分裂素撤除，会使细胞的分裂停止在细胞周期的$G_2$期，而不是$G_1$期或$G_1$与S期的交界处。如果此时再用细胞分裂素处理会使$G_2$期的细胞重新进入细胞周期进行有丝分裂。我们已经知道细胞分裂素诱导细胞有丝分裂是通过增加CDK-周期素复合体的活性实现的，但是在上述试验过程中，细胞内的CDK-周期素复合体的总量没有发生变化，只是CDK-周期素复合体的磷酸化程度有所变化。所以，细胞分裂素增加了CDK为底物的磷酸酶活性，通过脱磷酸化将CDK上起抑制作用的磷酸基团除去，活化CDK-周期素复合体激酶活性，使其进一步磷酸化下游蛋白，诱导细胞的有丝分裂。

上述试验结果证明细胞分裂素直接参与了细胞周期的控制和调节，但是目前我们还不清楚细胞分裂素是如何在转录水平调节α3-周期素和CDK磷酸酶活性的。

## （三）细胞分裂素促进侧芽和不定芽生长分化

### 1. 生长素/细胞分裂素比例与根芽分化

在烟草髓组织作为外植体的植物组织培养过程中，Skoog和Miller等人发现烟草愈伤组织根和芽的分化受培养基中生长素和细胞分裂素比例的控制。较高的生长素/激动素比例可以刺激生根，相反地，较高的激动素/生长素比例可以刺激芽的发生。而适中的生长素和激动素比例可以维持愈伤组织的生长而不发生分化（图12-26）。

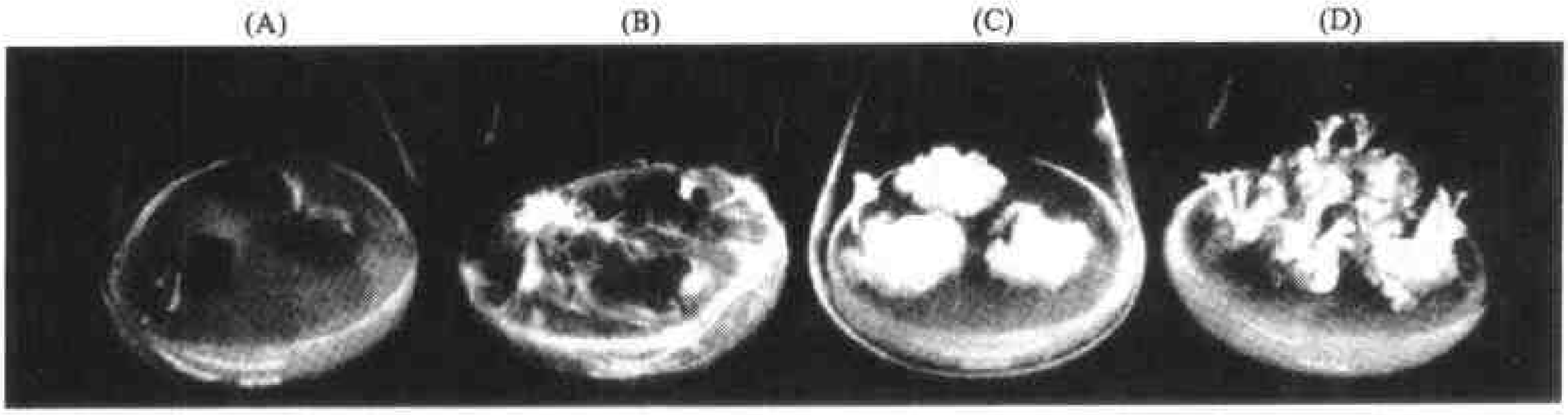



图12-26　生长素和细胞分裂素对烟草愈伤组织分化的影响（Taiz & Zerger　1998）

烟草外植体在含有11.4μmol/L的生长素和0～15μmol/L的细胞分裂素的培养基内培养一个月。(A)如果培养基中缺乏细胞分裂素，细胞分裂受到严重抑制；(B)较高的生长素和细胞分裂素比例促进根的分化；(C)中等的生长素和细胞分裂素比例维持愈伤组织的生长；(D)较低的生长素和细胞分裂素比例促进芽的分化。

利用转基因处理的冠瘿瘤组织进行的试验也证实了生长素/细胞分裂素比例控制根芽分化的现象（图12-27）。研究者将农杆菌Ti质粒上的T-DNA进行各种诱变，然后导入植物中观察诱发的冠瘿瘤生长情况；观察发现，一些特定位点的突变会导致和正常冠瘿瘤形态不同的所谓“畸态瘤”（teratomas）的产生，即在瘤上会产生大量枝条或根须。当T-DNA上的*tmr*位点发生变异时，畸态瘤会产生大量的根；当T-DNA上的*tms*位点发生变异时，畸态瘤会产生大量的枝条；所以*tmr*突变体称为多根（rooty）突变体，而*tms*突变体被称为多枝（shooty）突变体。进一步的试验分析表明，多枝突变体内和生长素IAA生物合成有关的两个基因发生了变异，而多根突变体内和玉米素合成有关的*ipt*基因发生了变异。这些变异导致多根突变体内具有相对于细胞分裂素较高水平的生长素，而在多枝突变体内具有相对于生长素较高水平的细胞分裂素。这个试验结果进一步证明了生长素和细胞分裂素比例在控制植物形态建成上的重要性。

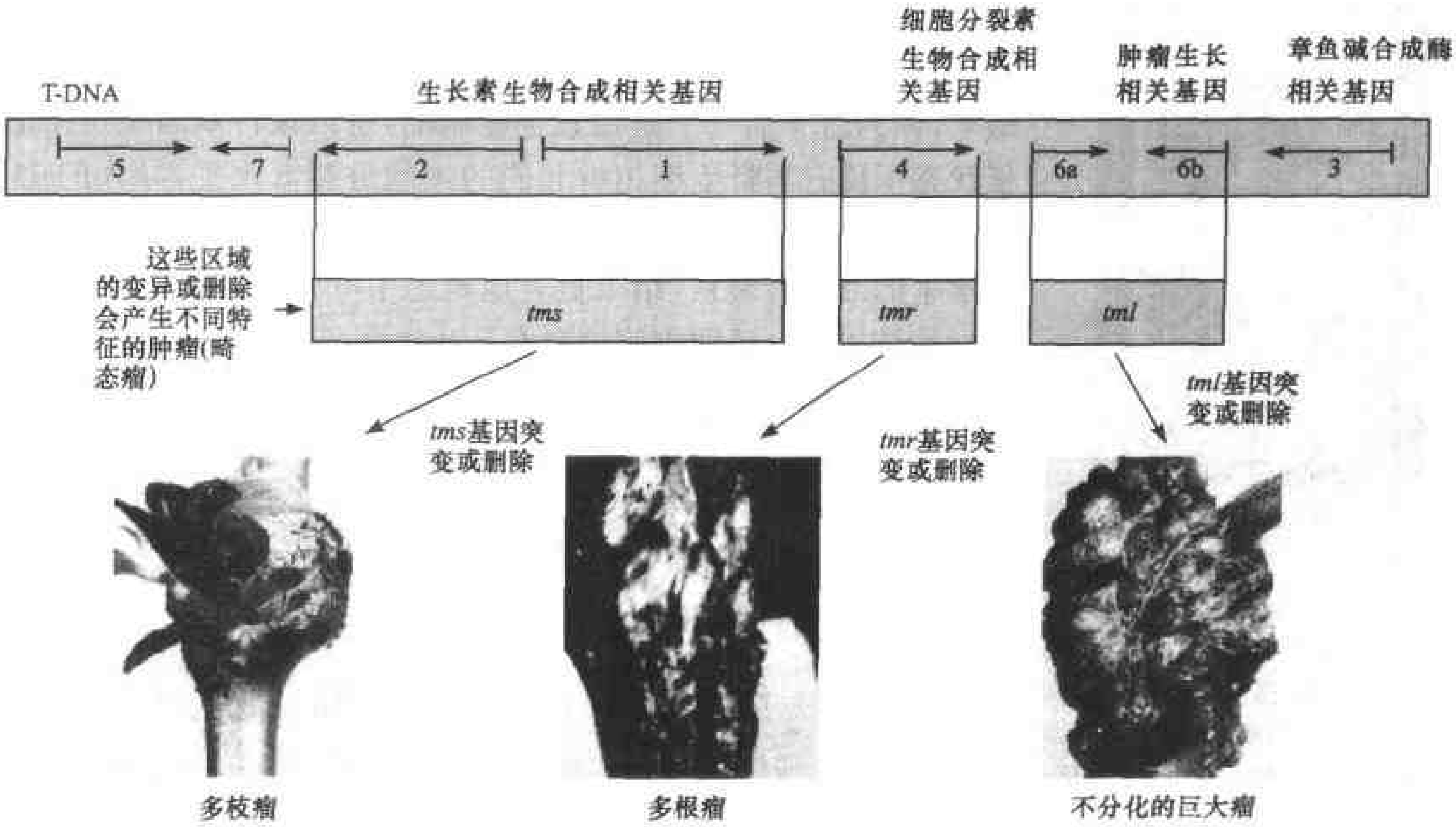



图 12-27 农杆菌 Ti 质粒上不同基因的变异会导致不同形态的冠瘿瘤发生(Taiz & Zeiger 1998)

图中灰色长条表示 T-DNA,数字表示 T-DNA 导入植物细胞后表达的基因。

**2. 顶端优势**

所谓顶端优势,指的是主茎顶端对侧枝侧芽萌发和生长的抑制作用。植物的整体形态很大程度上是受顶端优势控制的。具有很强顶端优势的植物,如玉米,只有一条主茎,很少或没有侧枝发生;而灌木的顶端优势很弱。虽然顶端优势主要是由生长素控制的,但是试验发现细胞分裂素具有诱导侧芽生长的生理效应。例如用细胞分裂素直接处理侧芽会刺激芽的细胞分裂和生长,细胞分裂素过量产生的突变体常常有顶端优势抑制的表型,例如野生型烟草具有很强的顶端优势,而细胞分裂素过量则突变体上的侧枝生长茂盛,几乎可以与主茎相当。这些现象表明,细胞分裂素是削弱或打破顶端优势的激素。如果考虑到细胞分裂素是根激素,这种现象就比较容易理解了。细胞分裂素的合成水平直接反映了根系的活力水平,高水平的细胞分裂素表示植物根系活力旺盛,可以支持更多的枝条生长,正所谓的"根深叶茂"。

## (四) 细胞分裂素抑制叶片衰老

从植物体上脱落的叶片内的叶绿素、RNA、脂肪和蛋白质会逐渐降解,即使我们维持环境湿度,并给叶片供应营养也不能避免,这种现象是植物的一种程序老化(programmed aging)过程。尤其是在黑暗条件下,叶片衰老进行得更为迅速。用细胞分裂素处理可以延迟叶片衰老,这种延迟衰老的作用对植株上未脱落的叶片具有更显著的效果。例如用细胞分裂素处理植株上的一个叶片,那么即使其他的叶片发黄脱落,这片处理叶片仍然会保持绿色;甚至一个叶片上的一个小点用细胞分裂素处理后,周围其他组织开始衰老,该点仍然会维持绿色。

试验证明幼嫩叶片可以产生细胞分裂素,而成熟叶片不能合成。成熟叶片内的细胞分裂素主要是由根系合成并运输而来。运输到叶片中起延迟衰老作用的细胞分裂素主要是玉米素核苷和双氢玉米素核苷。在大豆上,叶片的衰老是由种子成熟诱导的,称为单次结实性衰老(monocarpic senescence);如果将发育中的种子除去,可以延迟叶片的衰老。试验证明,大豆种子对叶片衰老的控制,是通过抑制根系细胞分裂素向叶片的运输来实现的。



图 12-28 含有 *IPT* 基因的转基因烟草叶片衰老受到抑制
(Taiz & Zeiger 1998)
*IPT* 基因的表达受半胱氨酸蛋白酶基因启动子的控制，诱导衰老的信号可以激活该启动子。图左侧为转基因烟草，右侧为相同年龄的野生型对照烟草。

为了在分子水平上证实细胞分裂素在叶片衰老中的调节作用，有研究者将拟南芥半胱氨酸蛋白酶基因启动子和 *IPT* 基因整合后导入烟草，因为这个启动子是由衰老控制的，所以该转基因植物在正常生长状态下具有与野生型植株相同的细胞分裂素水平，导入的 *IPT* 基因只有在叶片开始衰老时才开始启动和表达，表达后在叶片中产生较高水平的细胞分裂素，结果显著地延迟了叶片的衰老(图 12-28)。这个试验结果充分证明细胞分裂素是叶片衰老的内在调节因子。

细胞分裂素可以诱导营养成分从植物的其他部位转移到叶片或果实中。用同位素标记试验证明，营养物会优先向细胞分裂素处理的叶片或组织移动并发生积累。细胞分裂素作为一种指引同化物移动方向的信号，诱导营养物向其移动(图 12-29)。细胞分裂素处理使植物建立了一种新的源库关系。

## (五) 细胞分裂素促进或抑制细胞的扩大

双子叶植物，如黄瓜、芥菜、向日葵和萝卜等的子叶用细胞分裂素

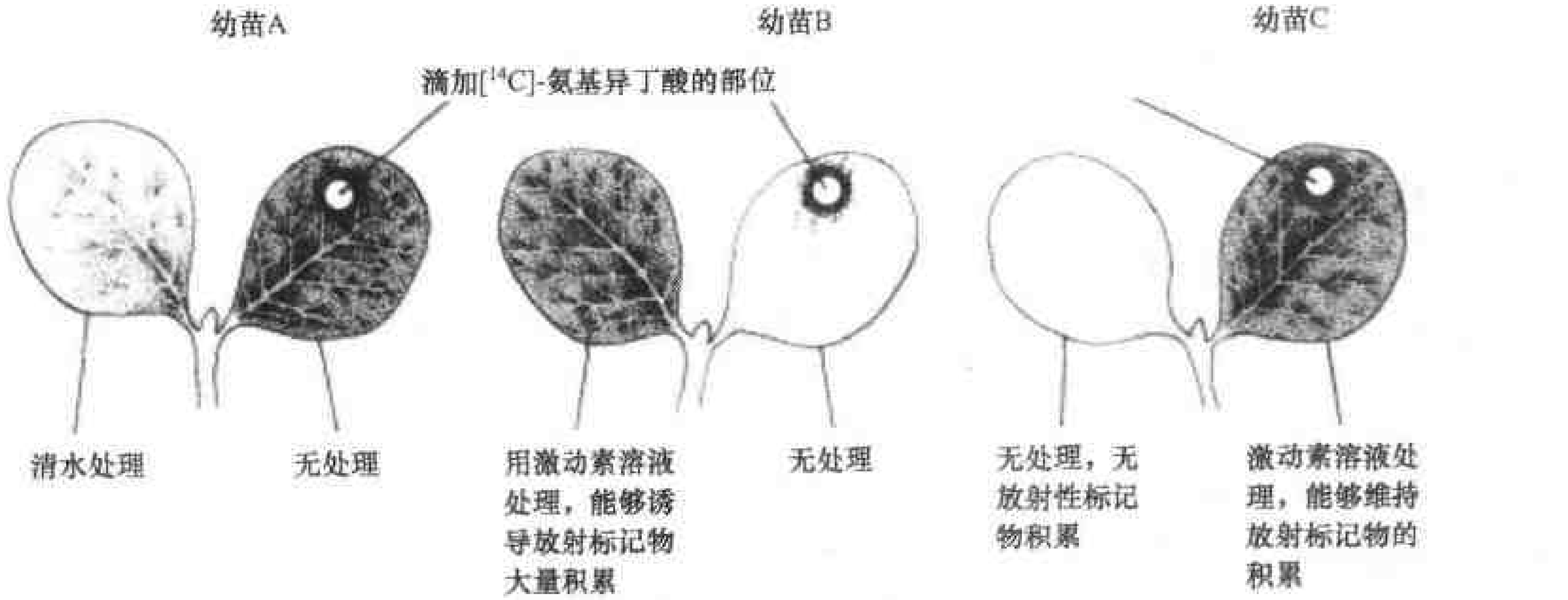
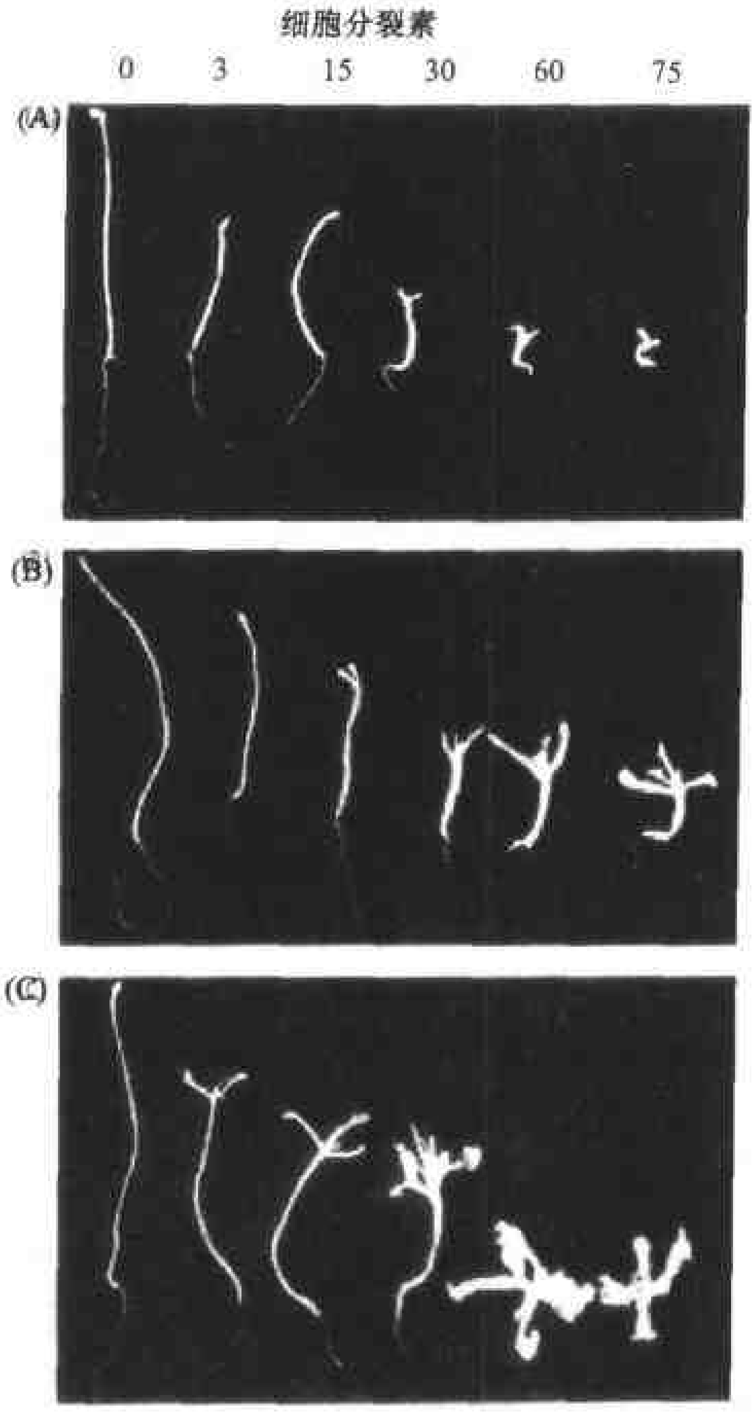


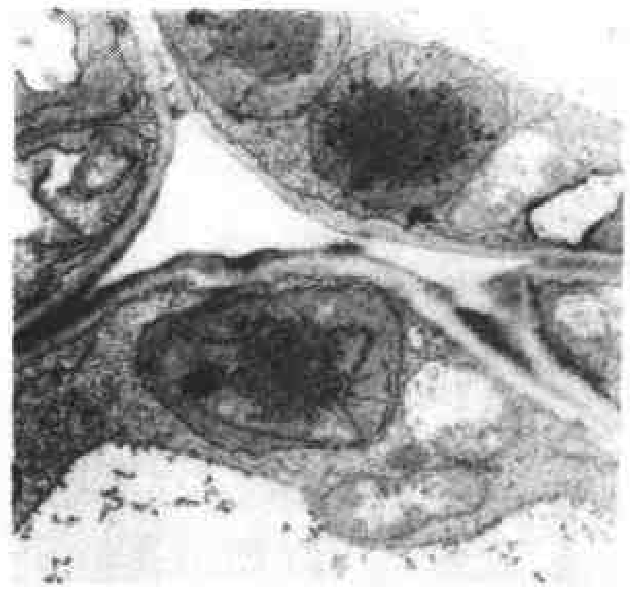

图 12-29 利用黄瓜幼苗子叶进行的细胞分裂素诱导氨基酸移动的试验(Taiz & Zeiger 1998)
[$^{14}$C] 氨基异丁酸不能被降解，方便用来观察营养物质的移动。所有幼苗的右侧子叶上滴加[$^{14}$C] -氨基异丁酸，在对两个子叶进行不同处理，然后用放射自显影观察放射性物质的分布，结果如图所示，图中叶片上黑点的多少表示放射性强度。

处理，可以显著促进其扩大生长。子叶的扩大不是因为细胞数目的增多而是由于细胞体积的增大。

双子叶植物的子叶在光照条件下比黑暗条件下扩大生长的速度要快得多，细胞分裂素处理可以促进光照条件下的子叶生长，也可以促进黑暗条件下的子叶生长(图 12-30)。和生长素促进的细胞伸长生长类似，细胞分裂素促进的细胞生长也是因为增加了细胞壁的伸展性。但是，细胞分裂素诱导的细胞壁松弛过程并不伴随质子分泌导致的细胞壁酸化。而且生长素和赤霉素都不会促进双子叶植物子叶的扩大生长，所以细胞分裂素对子叶扩大生长促进的作用机制可能非常独特。

细胞分裂素虽然促进子叶或叶片的细胞扩大生长，但却抑制植物茎和根细胞的伸长生长。例如使用能够产生促进子叶扩大效应的外源细胞分裂素浓度处理会抑制幼苗上胚轴的伸长，而且在 *ipt* 转基因植物和细胞分裂素过量突变体中，植株的茎和根的生长都会受到抑制，证明细胞分裂素在根茎生长过程中起抑制作用。许多验证细胞分裂素抑制茎伸长生长的试验都是用上胚轴或茎节的切段进行的，目的是为避免茎尖产生的生长素干扰试验。而且有证据表明细胞分裂素对茎伸长生长的抑制也与它能诱导乙烯产生有关，与生长素抑制根伸长生长的情况类似。



暗条件下幼苗叶绿体形态（无细胞分裂素处理）



暗条件下幼苗叶绿体形态（有细胞分裂素处理）

**图 12-30　细胞分裂素对暗条件下培养的拟南芥幼苗形态的影响**

(A)(B)(C)分别表示幼苗生长 1、2、3 周后的情况。图上面的数字表示细胞分裂素处理浓度。随着细胞分裂素浓度的升高，幼苗上胚轴生长抑制越显著，子叶扩张幅度越大，并且促进真叶的分化和生长。细胞分裂素显著促进暗条件下拟南芥幼苗子叶内叶绿体的发育。

# 第五节　脱　落　酸

## 一、脱落酸的发现

人们在对植物芽和种子的休眠的研究过程中，认为是植物中的生长抑制物质导致了休眠，并尝试从一些植物材料，特别是休眠芽中分离提取这些抑制物。此后，一种促进棉铃脱落的物质被提纯，并被命名为脱落素 II(*abscisin* II)。同时有人从小无花果树叶片中纯化了一种能促进芽休眠的物质，命名为休眠素(dormin)。化学结构鉴定发现脱落素 II 和休眠素是同一种物质，所以就统一命名为脱落酸(abscisic acid，ABA)(图 12-31)，之所以有脱落酸的名称，是因为当时人们认为它主要参与了脱落过程，但是正如我们将要在本章中讨论的那样，脱落酸实际上并不是脱落的主要控制因子，乙烯才是脱落的主要诱导激素，至于脱落酸诱导的棉铃脱落是因为它刺激了乙烯的发生；脱落酸具有自己独特的功能，本节中我们将讨论脱落酸作为生长抑制剂对生长的抑制作用、对气孔开闭的调节作用，脱落酸作为逆境激素的作用，还有脱落酸在种子休眠中的重要功能。

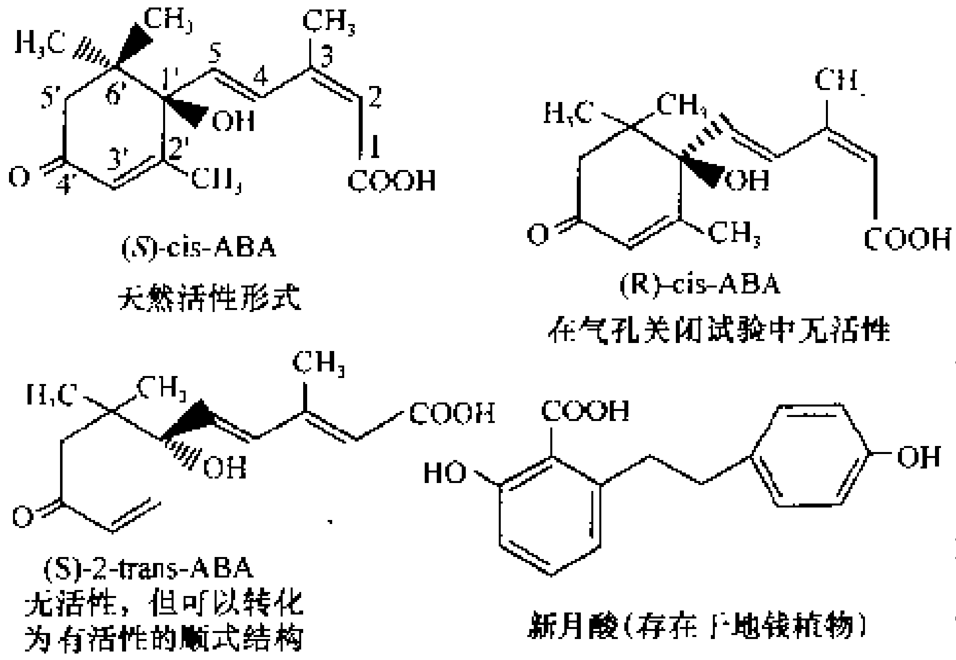



图 12-31 脱落酸及其类似物的化学结构

## 二、脱落酸的结构与活性

脱落酸在高等维管植物中广泛存在，在苔藓中也有少量存在，但是在地钱中检测不到。另外，在某些种类的真菌中 ABA 作为次生代谢产物存在。在地钱中，有一种类似 ABA 的化合物——新月酸(lunularic acid)具有与 ABA 类似的生物活性(图 12-31)。在植物体中，ABA 在从根尖到茎尖的所有部位均有存在，而且几乎所有含叶绿体或淀粉质体(amyloplast)的细胞中都可以合成 ABA。

ABA 是一种酸性倍半萜，其化学结构和类胡萝卜素分子结构的末端部分比较相似(图 12-31)，包含 15 个碳原子，含一个具有不饱和键和三个甲基的脂肪环、一个不饱和侧链和一个羧基末端。由于 ABA 侧链具有不对称的 2,3 位双键存在，所以 2 位上羧基的取向不同就决定了 ABA 具有顺式和反式两种构型(图 12 31)。几乎所有生物合成的 ABA 都是顺式构型，所以通常 ABA 指的就是 *cis*-ABA。

ABA 分子在脂肪环的 1′位上具有一个不对称的手性碳原子，所以 ABA 具有 S 和 R(或＋和－)两种对映体构型，生物合成的 ABA 构型是 S 对映体，人工合成的 ABA 是 S 和 R 对映体的消旋混合物。

只有 ABA 的 S 对映体才能在一些 ABA 快速生理效应中发挥作用，例如气孔开闭的调控，但是一些较长期的效应，例如种子中储藏蛋白的合成等，ABA 两种对映体都有作用。在植物体内，ABA 的顺反式构型可以相互转换，而 R/S 对映体构型之间不能相互转换。

## 三、脱落酸的生物合成、运输和代谢

### (一) 脱落酸的生物合成

脱落酸的生物合成主要发生在叶绿体和其他质体内。其大致的合成途径如图 12-31 所示。几种脱落酸生物合成突变体的突变位点都位于该合成途径中的几个位点上，添加外源 ABA 可以恢复这些突变体的异常表型。例如西红柿的两个突变体 *flacca*(*flc*)和 *sittiens*(*sit*)都是“萎蔫突变体”，因为叶片内 ABA 合成受阻，气孔关闭发生障碍，容易导致过度蒸腾而发生萎蔫。而外源脱落酸处理可以恢复叶片的水分平衡，防止萎蔫；拟南芥的 *aba* 突变体也是一种萎蔫突变体。这些突变体对研究脱落酸的生物合成途径具有重要的意义。

脱落酸生物合成从异戊二烯基焦磷酸(IPP)开始，到紫黄素(violaxanthin)[一种 C40 的叶黄素类物质(xanthophyll)，即氧化胡萝卜素]，最后到 ABA(图 12-32)。ABA 的合成途径因为中间有一个 C40 的紫黄质作为中间体，所以也称 C40 途径。叶黄素作为从 IPP 到 ABA 的中间产物可以从一种玉米突变体上获得证明。该突变体是一种胡萝卜素合成缺陷型突变体，体内缺乏叶黄素合成，该突变体同时也是一种胎萌突变体(vivipary mutant)，即种子在未脱落之前就开始发芽的现象，是因为种子中缺乏 ABA 的缘故。而添加叶黄素会部分恢复突变体内的 ABA 合成。

在真菌中存在着另外一条 ABA 合成途径，即从 C15 的顺式法尼基焦磷酸直接合成顺式 ABA。这条途径也称为 C15 途径。

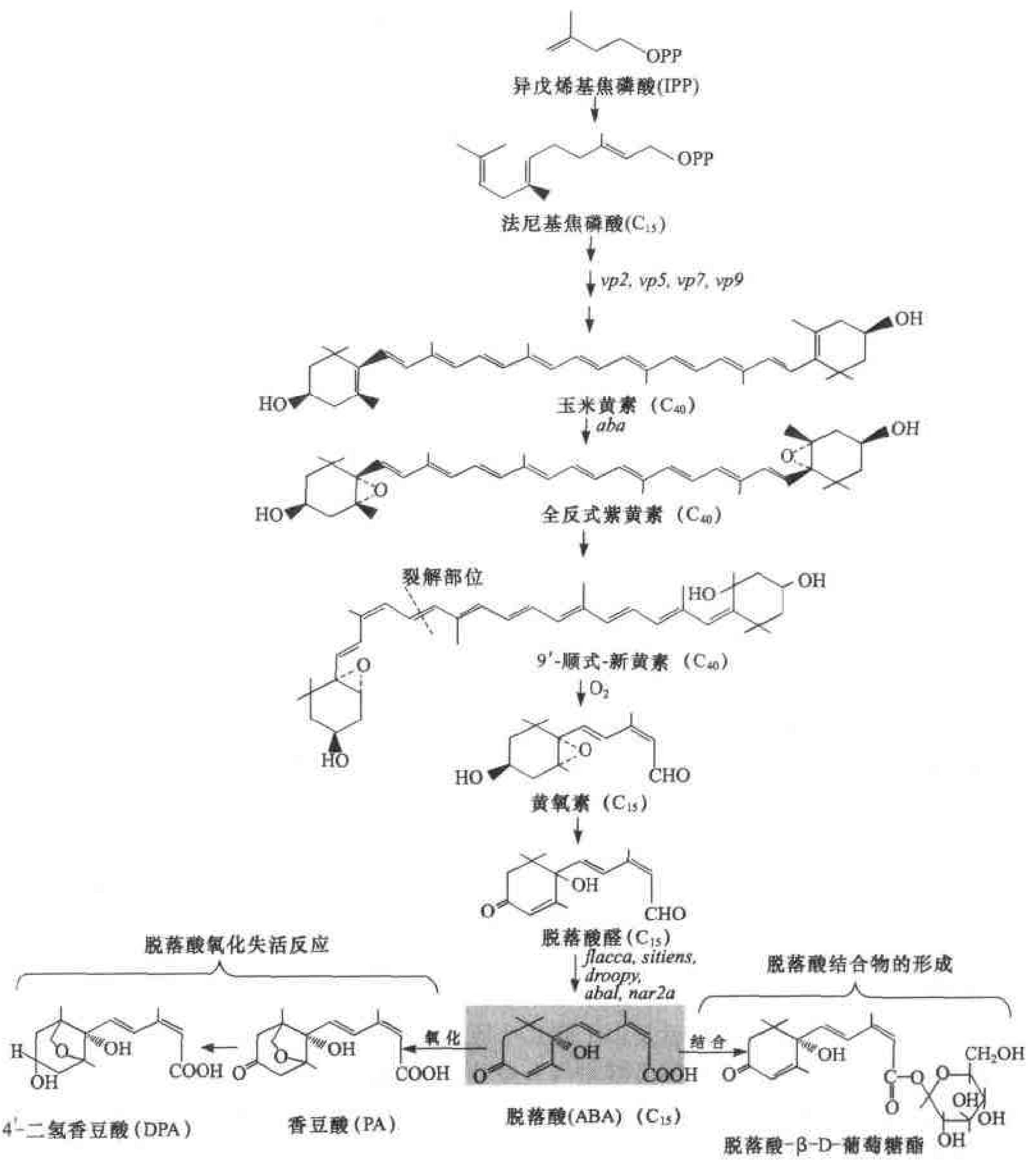



**图 12-32　高等植物中脱落酸的生物合成和代谢途径**

图中注明了各种脱落酸生物合成突变体的名称和突变位点，其中 *vp* 是玉米突变体，*aba* 是拟南芥突变体，*flacca* 和 *sitiens* 是番茄突变体，*droopy* 是马铃薯突变体，*nar2a* 是大麦突变体。

## （二）脱落酸的运输

ABA 既可以在木质部运输，也可以在韧皮部运输，但主要是韧皮部运输。将同位素标记的 ABA 饲喂植物叶片，标记 ABA 可以同时沿着茎向上或向下运输，24 小时后大多数标记 ABA 会积累在根部。如果用环割的方法破坏韧皮部，就会抑制 ABA 向根系的运输和积累，所以叶片内的 ABA 运输主要依赖韧皮部运输。

根系内合成的 ABA 则主要依赖木质部运输到茎叶部。在土壤水分状况良好时，向日葵植株的木质部液内的 ABA 浓度大约是 1.0～15.0nmol/L，当发生土壤水分胁迫时，其中的 ABA 浓度可以上升到 3.0μmol/L。此时 ABA 作为一种干旱信号传输到地上部叶片内，并通过诱导气孔关闭来降低叶片

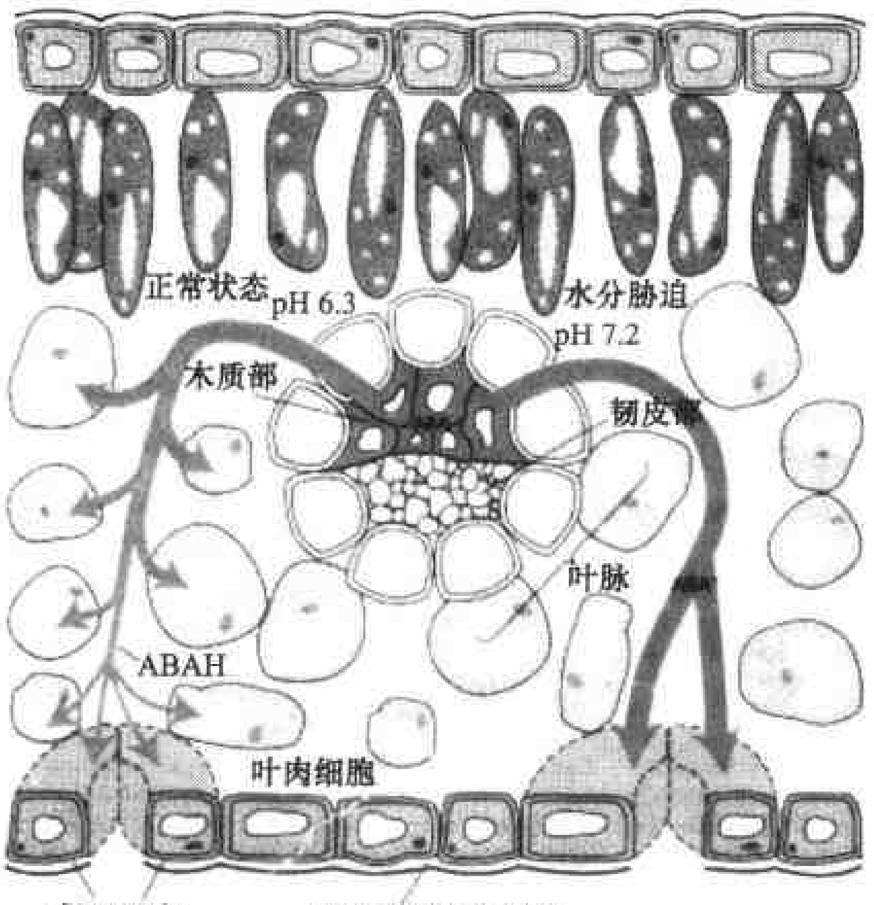



图 12-33 水分胁迫条件下脱落酸在叶片内的移动情况
(Taiz & Zeiqer 1998)
正常生理状态下木质部液 pH 为 6.3,其中的脱落酸为非解离形式(ABAH),有利于叶肉细胞的吸收和储存;但是在干旱条件下,木质部液 pH 碱化至 7.2,脱落酸为解离形式($ABA^-$),不易被叶肉细胞吸收,而是大部分随蒸腾流被运输到保卫细胞附近,促进保卫细胞的关闭。

水分蒸腾。

虽然在干旱条件下木质部液内的 ABA 浓度高达 3.0μmol/L,但是并不是所有的这些 ABA 都被运输到叶片的保卫细胞处,因为在运输途中,大量的 ABA 在蒸腾流经过叶片时被叶肉细胞吸收并代谢掉了。为了防止这种额外的损失,植物会产生自己的预防策略。在发生水分胁迫的早期,木质部液的 pH 会从 6.3 上升到 7.2,木质部液的碱化有利于 ABA 羧基的解离,荷负电的 $ABA^-$ 不容易透过细胞质膜扩散到细胞内(图 12-33),这样就可以避免大量的 ABA 被叶肉细胞吸收,使更多的 ABA 到达保卫细胞。木质部液的 pH 升高还是一种化学信号,有助于促进叶片气孔的快速关闭。

### (三) 脱落酸的代谢

脱落酸的代谢是一个比较有趣的研究课题。因为植物体的特定器官内 ABA 水平的变化会随着环境条件的变化发生大幅度的波动。例如在发育的种子中,ABA 水平可以在几天的时间内上升 100 倍,然后会随着成熟度的增加降低到几乎为 0 的水平。又如在水分胁迫的条件下,叶片中的 ABA 水平可以在 4~8 小时内上升 50 倍,随着水分条件的改善,ABA 水平又会在与前述大致相同的时间内降低到正常水平。

植物组织中 ABA 浓度的调节不仅仅依赖生物合成活性的变化,和其他植物激素一样,细胞内的游离 ABA 水平的调节还可以被结合物合成及水解、降解代谢、分室作用和运输所调节。例如水分胁迫条件下的叶片中 ABA 水平的提高就是由下列几个原因共同作用造成的:叶片内 ABA 生物合成的增加、叶肉细胞内储存 ABA 的释放,以及根系内合成的 ABA 通过蒸腾流向叶片的运输。反过来,水分条件改善后叶片内 ABA 水平的下降也是由于叶片内 ABA 生物合成活性降低、降解和通过韧皮部输出叶片等因素所致。

ABA 的失活代谢包括氧化降解和形成结合物两个途径。游离的 ABA 被氧化后生成一个不稳定的中间产物 6-羟甲基脱落酸(6-hydroxymethyl ABA),随后迅速转变为红花菜豆酸(phaseic acid,PA)和二羟红花菜豆酸(dihydrophaseic acid,DPA)(图 12-32)。PA 在生物测定中只表现很微弱的 ABA 生物活性,但是在某些植物种类中可以诱导气孔关闭,而且在抑制赤霉素诱导的大麦糊粉层内 α-淀粉酶合成方面具有与 ABA 相当的活性。这些结果说明 PA 有与 ABA 受体结合的能力,但是 DPA 在生物测定中不表现任何 ABA 生物活性。

游离 ABA 也可以被共价结合到一些单糖分子上发生钝化。常见的 ABA 结合物是 ABA-β-D-葡萄糖酯(ABA-β-D-glucosyl ester,ABA-GE)。

## 四、脱落酸的生理功能

### (一) 脱落酸与种子发育

植物种子发育分为两个长度大致相同的阶段,第一阶段是以细胞分裂增殖为特征,从受精卵开始

形成胚胎组织和胚乳组织；第二阶段以储藏物积累为特征，细胞停止分裂，淀粉、脂肪、蛋白质等储藏物质大量积累，种子脱水，此时胚胎的耐干燥性也逐渐增强。

在种子胚胎发育的第一阶段，其中的 ABA 含量较低，到种子发育中期时，ABA 水平达到最高，然后随着种子的成熟逐渐降低。

种子中的 ABA 对种子的发育和成熟具有重要的生理作用。首先 ABA 促进了胚胎耐干燥性的形成。因为干燥脱水会严重破坏细胞膜及细胞器的结构，在种子胚胎发育中后期，种子中形成一种胚胎发生晚期丰富蛋白(late embryogenesis abundant proteins，LEA)，起着增强胚胎抗干燥性的作用。研究发现，胚胎中编码 LEA 蛋白的 mRNA 水平的增加与胚胎中 ABA 水平的增加同步，而且将发育早期的胚胎分离后用 ABA 处理可以使胚胎内的 LEA 提前合成，说明 LEA 蛋白的合成受 ABA 的调节和控制。

LEA 蛋白具有极强的亲水性和热稳定性，可防止细胞内组分的结晶，并起一种“稳定剂”的作用保护细胞膜不受脱水的伤害。

种子内的储藏物质积累发生在胚胎发育的晚期，由于此时 ABA 水平仍然维持在一个较高水平，所以推测 ABA 是控制储藏物质积累的一个重要因素。

拟南芥 ABA 生物合成缺陷型 *aba/abi3-1* 双突变体种子中储藏蛋白的合成量极少，而且在种子未成熟前就停止合成了。在 ABA 缺陷型的玉米突变体种子内有同样的现象，可见在胚胎形成过程中，ABA 是储藏蛋白合成必要的控制因子。

## （二）脱落酸与种子休眠

**1. ABA/GA 比例控制种子休眠**

种子休眠是植物种子适应不良环境的一个重要手段。ABA 对维持种子休眠具有重要作用。种子休眠按休眠原因可以分为两种，种皮型休眠(coat-imposed dormancy)和胚胎型休眠(embryo dormancy)(参见第十六章)。在这两种类型的种子休眠中，ABA 都有重要的作用。

在种皮型休眠中，种皮或其他种子包覆物除了机械限制、阻碍水分氧气通透等因素外，种皮对种子内抑制物渗出的阻碍作用或者种皮本身就含有抑制物也会影响种子萌发。种子内常见的抑制物就是 ABA。

在胚胎型休眠中，起决定因素的是胚胎组织中存在生长抑制物 ABA，或者缺乏生长促进物 GA。在很多情况下，胚胎休眠的维持或打破与胚胎内 ABA/GA 的比例有关。

ABA 突变体在 ABA 与种子休眠关系的研究中起着重要作用。某些生态型的拟南芥种子有一定的休眠性，但可以被适当的后熟作用或低温处理所打破。拟南芥的 ABA 缺陷型突变体(*aba*)种子没有休眠性，而且外源 ABA 不能诱导 *aba* 突变体胚胎产生休眠。拟南芥的 ABA 不敏感型突变体 *abi1* 和 *abi3* 的休眠性也很弱。另外，番茄的 ABA 缺陷型突变体种子也表现相似的性质；所以，ABA 对维持种子胚胎休眠具有重要意义。

研究还发现，在种子休眠的控制中，ABA 是与其他激素，尤其是与 GA 协同作用的。例如在许多植物种子发育过程中，ABA 水平的高峰期与种子内 GA 水平的低峰期重合，而在休眠打破时，GA 水平的高峰期与种子内 ABA 水平的低峰期重合；这暗示抑制型激素 ABA 和促进型激素 GA 在种子生长发育过程中是此消彼长的关系。

证明上述推论的一个经典试验是发现第一个拟南芥 ABA 缺陷型突变体的试验。GA 缺陷型突变体的种子在缺乏外源 GA 的培养基上是不能发芽的，研究者将这些种子经过诱变处理，然后培养在温室内，试图筛选回复突变株(revertant)，即筛选恢复发芽能力的变异株。结果发现筛选出的回复突变株不是 GA 合成的回复突变株，竟是 ABA 缺陷型突变体，更令人惊奇的是发现这些回复突变株能

够发芽的原因是种子内的 ABA：GA 的比例与野生型种子相同，而两种激素的绝对水平都比野生型要低，因为 GA 和 ABA 的合成同时被抑制了。但正是其相对比例保持与野生型相同的巧合，使其回复了发芽能力。可见在植物激素的相互作用中，激素之间的比例关系可能比激素的绝对浓度要重要得多。

**2. ABA 与胎萌现象**

ABA 对种子休眠的调控作用，还可以从一种特殊的生理现象——胎萌现象（vivipary）的研究中得到证实。所谓胎萌现象，是指种子在未脱离母体植株前就开始萌发的现象。谷类作物的胎萌现象会对产量和品质造成有害的影响，例如玉米有若干种胎萌突变体（*vp* mutant），种子在穗上时就开始发芽。这些玉米胎萌突变体都是与 ABA 有关的突变体，其中有些是 ABA 合成缺陷型突变体（*vp2*、*vp5*、*vp7*），有些是 ABA 不敏感突变体（*viny*）。ABA 合成缺陷型突变体的胎萌现象可以用外源 ABA 处理加以抑制。

## （三）脱落酸与逆境

脱落酸有"逆境激素"的别称，这是因为脱落酸在植物的抗旱、抗寒和抗盐的生理过程中具有重要的作用（参见第十九章）。

**1. 调节气孔运动**

我们已经知道，ABA 是对环境因素反应最激烈的激素之一，叶片中的 ABA 浓度在水分胁迫条件下短时间内可以上升 50 倍，所以 ABA 是一个介导环境因子，特别是逆境因子的信号物质。

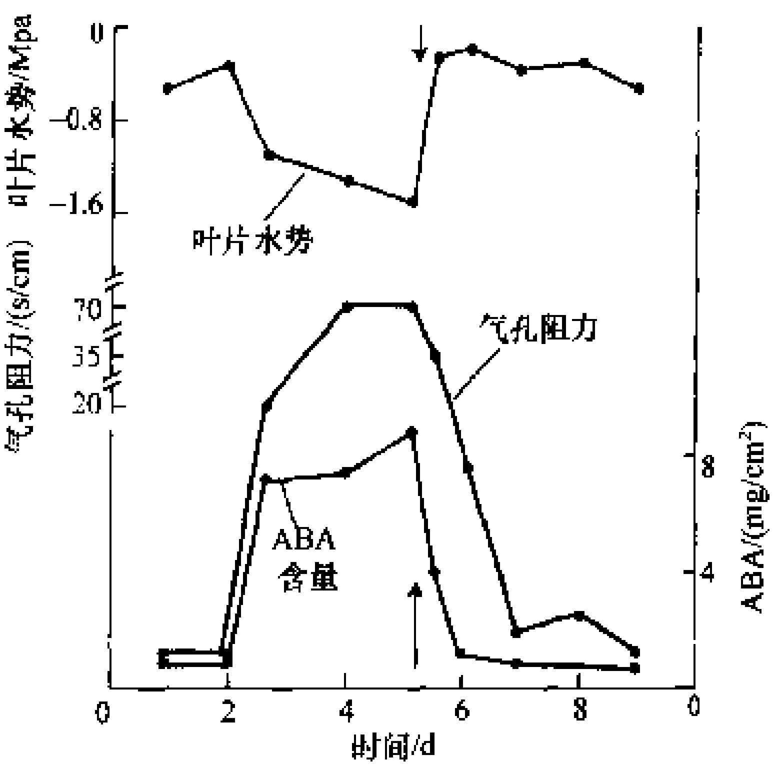



图 12-34　水分胁迫条件下玉米叶片气孔阻力、水势以及脱落酸含量的变化情况（Taiz & Zeiger　1998）
图中箭头位置为浇水时刻。随着干旱时间的延长，叶片水势下降，脱落酸含量增加，气孔阻力增大；在恢复水分供应后，上述变化呈相反的趋势。

水分胁迫条件下叶片内 ABA 水平的升高促进了气孔的关闭、减少了蒸腾，维持了叶片的水分平衡（图 12-34）。其实在实际情况下，叶片的气孔关闭开始时间要早于叶片中 ABA 浓度的升高的时间，这可能是由于叶片内 ABA 重新分配的缘故（参见第十九章）。

ABA 合成缺陷型突变体通常表现为萎蔫突变体，这是因为这些突变体丧失了正常的气孔关闭功能。外源 ABA 处理会恢复这些突变体的气孔关闭，同时恢复叶片细胞的膨压。

关于 ABA 促进气孔关闭的作用的分子机制，将在下一章中详加讨论。

**2. 抗逆激素**

植物体内的脱落酸水平不仅在水分胁迫条件下升高，而且在盐胁迫、低温胁迫甚至高温胁迫等逆境条件下都会升高。因为几乎所有的这些逆境条件都会直接或间接地诱导植物细胞发生水分状态的变化，例如使细胞的膨压下降等，而细胞的膨压变化会诱导脱落酸合成的增加。

脱落酸在植物抗逆生理中的具有重要作用，外源脱落酸处理会增强植物抵抗霜冻和盐害的能力。利用烟草培养细胞或整体植株进行的植物抗盐性与脱落酸关系的研究中，发现 NaCl 处理或脱落酸处理都可以诱导烟草产生一种低分子质量蛋白——渗透素（osmotin），目前认为渗透素是一种保护性蛋白，在其他植物中也广泛存在。

### （四）脱落酸促进叶片衰老

脱落酸最初是被当作脱落诱导因子被分离提纯的，但是后来证明脱落酸仅仅在少数几种植物中促进器官脱落，大多数植物中控制脱落的主要激素是乙烯。虽然如此，有证据表明，脱落酸在叶片的衰老过程中起着重要的调节作用，由于脱落酸促进了叶片的衰老，增加了乙烯的生成，从而间接地促进了叶片的脱落。

研究离体燕麦叶片切段的衰老过程中，发现 ABA 作用在衰老过程的早期，起一种启动和诱导的作用；而乙烯作用在衰老的后期。虽然脱落酸能够刺激乙烯的生成，但是脱落酸对衰老的促进作用并非以乙烯为中介，而是直接发挥作用的。在比较 ABA 和乙烯处理对野生型和乙烯不敏感型突变体两种拟南芥叶片衰老的影响时发现，无论在光照条件还是在黑暗条件，在无任何处理的情况下，野生型拟南芥叶片的黄化要比乙烯不敏感突变体拟南芥叶片快得多；而乙烯处理会大幅度增加野生型拟南芥叶片的黄化速度，而突变体叶片不受影响；脱落酸处理则同时促进两种拟南芥叶片的黄化速度。这个实验结果说明脱落酸促进叶片衰老的生理作用是区别于乙烯的独立作用。

### （五）脱落酸的生理促进作用

脱落酸通常被认为是一种生长抑制型的激素，例如抑制种子萌发、抑制生长、促进休眠，甚至促进叶片衰老脱落。但是用外源脱落酸处理完整健全的植株所获得的试验结果与这种负面的印象完全相反，脱落酸具有许多生育促进的性质。例如在较低浓度处理可以促进发芽和生根，促进茎叶生长，抑制离层形成，促进果实肥大，促进开花等等。

脱落酸的这种生育促进性质与其抗逆激素的性质是密切相关的。因为脱落酸的生育促进作用对于最适条件下栽培的植物并不突出，而对低温、盐碱等逆境条件下的作物表现最为显著。脱落酸改善了植物逆境适应性，增强了生长活性，所以在许多情况下表现出有益的生理促进作用。脱落酸的这种特殊的生理性质，对于正确理解脱落酸的生理意义十分重要，同时对脱落酸的实际应用也具有启发意义。

## 第六节　乙　　烯

### 一、乙烯的发现

我们的祖先很早就知道用烟熏的方法催熟果实和打破球根球茎花卉的休眠，这恐怕是人类最早利用乙烯的事例了。在 19 世纪，当时欧洲使用的街灯都是煤气灯，人们发现在街灯附近的树叶比其他树叶要落得早。直到 1901 年俄罗斯圣彼得堡植物研究所的一位学者 Dimitry Neljubow 研究证实，是泄漏煤气和燃烧废气损害了叶片的正常生长，其中乙烯(ethylene)是主要的作用因子。他还发现在实验室黑暗条件下培养的豌豆幼苗表现出茎节缩短，横向增粗和水平生长等异常现象，这就是后来所谓的“三重反应”(triple response)。当所谓的“实验室空气”被室外的新鲜空气取代后，豌豆幼苗又恢复了正常的生长。经过大量的实验，证明乙烯是所谓“实验室空气”中导致三重反应的有效成分。

1910 年 H. H. Cousins 向牙买加农业部提供的报告说，香蕉不宜和柑橘一起储存，因为柑橘会产生一种气体使香蕉过早成熟腐烂。但是我们今天已经知道，柑橘自身的乙烯合成能力比其他水果要小得多，所以人们猜测当时 Cousins 提到的柑橘可能感染了青霉菌，这种菌可以释放出大量的乙烯气体。1934 年，R. Gane 等人确定乙烯是植物代谢的自然产物，而且因为乙烯对植物生长发育具有显著的影响，所以认为乙烯是一种气态的植物激素。

此后 25 年时间内，乙烯的研究没有受到应有的重视，主要是因为当时的研究者认为乙烯的生理

效应可以由生长素处理产生，生长素才是植物内的主要激素，而乙烯是一个不重要的、只具有间接生理作用的物质。而且当时由于没有有效的定量检测手段，也阻碍了乙烯研究的进展。直到 1959 年气相色谱被用于乙烯的研究，乙烯作为植物激素的重要地位才被人们重新认识。由于拟南芥乙烯反应突变体的大量发现和应用，近年来乙烯受体和信号传递途径的研究取得了较大的进步。

本节将讨论乙烯的生物合成途径和乙烯对植物生长发育的生理效应。

## 二、乙烯的结构和生物合成

### （一）乙烯的结构和代谢

虽然乙烯的化学结构极为简单，但是其生物合成途径的研究却历时近半个世纪。乙烯生物合成研究的第一个突破是在 20 世纪 60 年代 Lieberman 和 Mapson (1964)发现一种氨基酸——蛋氨酸是乙烯的前体；第二个突破是 1979 年华裔科学家杨祥发及其同事发现 ACC(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid)是从蛋氨酸到乙烯合成过程的中间产物。后来证明乙烯的合成是一个蛋氨酸的代谢循环，被命名为“杨氏循环”(The Yang Cycle)。

乙烯的化学性质比较简单，其分子质量只有 28Da，在生理条件下比重比空气轻(图 12-35A)，容易燃烧和氧化。研究者用同位素标记物$^{14}C_2H_4$饲喂植物，追踪乙烯的代谢产物。发现乙烯的氧化产物有乙烯氧化物(ethylene oxide)(图 12-35B)，水解后生成乙烯二醇(ethylene glycol)和乙烯二醇的葡萄糖苷 (图 12-35C)。在许多植物组织中，乙烯可以被彻底氧化为 $CO_2$(图 12-35D)。

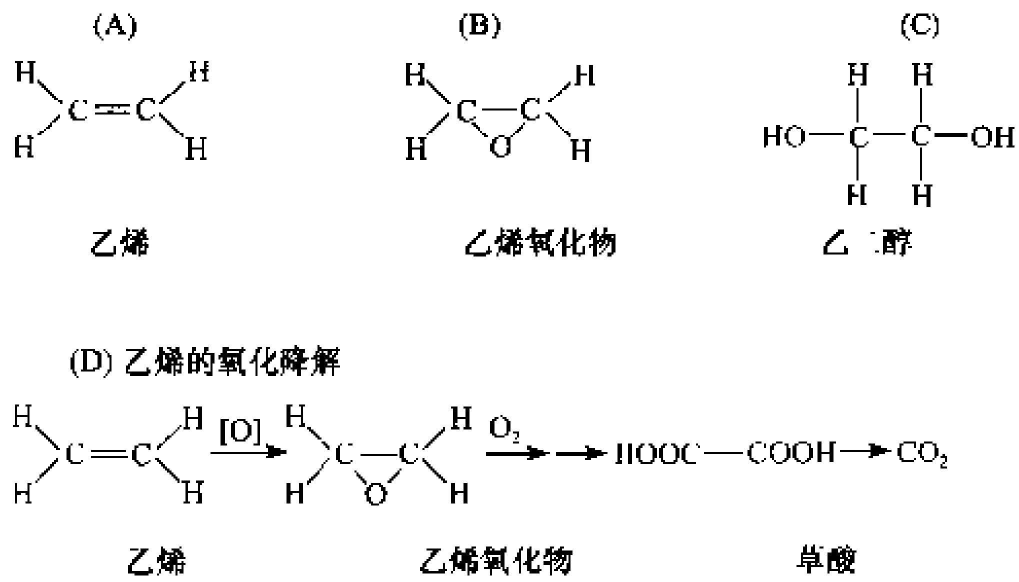



图 12-35　乙烯及其代谢物

### （二）乙烯的生物合成

几乎高等植物的所有器官都能合成乙烯，但是乙烯合成的速率随不同的组织和不同的发育阶段有所不同。一般而言，形成层和茎节区域是乙烯合成最活跃的部位。在叶片脱落、花器官衰老或者果实成熟时，乙烯的合成会大幅度增加；另外，对植物任何形式的伤害如机械损伤、淹水、干旱、高温、冷冻和病害等逆境因素都会诱导植物体内乙烯的大量合成。

植物中乙烯产生量最大的器官是成熟的果实，发生速度大于 1.0 nL /(g · h)[按鲜重计(FW)]。乙烯在极低浓度(1 pL/L)下就具有显著的生物效应，成熟苹果组织内的乙烯浓度高达 2500 pL/L。可能让人费解的是幼嫩叶片的乙烯产生量比成熟叶片乙烯产生量要大得多，例如菜豆(*Phaseolus vulgaris*)幼叶的乙烯产生速率为 0.4 nL/(g · h)(FW)，而成熟叶片中的乙烯产生速率为 0.04 nL/(g · h)(FW)。植物正常生长的组织如果受到伤害或外因干扰时，其乙烯发生量会在 25～30 分钟内增加数倍之多，外因撤除后会在短时间内恢复正常。

裸子植物和一些低等植物，包括蕨类植物、苔藓、地钱和某些蓝藻都能产生乙烯。土壤中的乙烯

主要是由一些真菌和细菌产生的。但是动物(包括无脊椎动物和哺乳动物)的健康组织或代谢产物中似乎都没有乙烯产生。

## (三) 乙烯的生物合成

**1. 杨氏循环与乙烯合成的关键酶**

早期的工作已经明确蛋氨酸是乙烯生物合成的前体,因为用[$^{14}$C]蛋氨酸饲喂植物,可以生成[$^{14}$C]乙烯,而且是从蛋氨酸的第3、4位上的碳原子衍生而来的(图12-36)。进一步的研究证明蛋氨酸与ATP的反应产物S-腺苷蛋氨酸(S-adenosylmethionine,AdoMet)是乙烯生物合成途径中的中间产物。此后14年才发现乙烯的直接前体是1-氨基环丙烷基羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid,ACC)。给植物饲喂[$^{14}$C]蛋氨酸后,如果培养在缺氧条件下,植物不能产生乙烯,却发生标记ACC的大量积累,重新在有氧条件下培养后,乙烯又会大量产生。许多植物组织都能将标记的ACC快速转变为乙烯,说明在高等植物中,ACC是乙烯的直接前体;而且给乙烯发生速率较低的植物组织饲喂ACC,会使乙烯发生速率迅速升高,说明ACC的合成是乙烯生物合成途径的限速步骤。

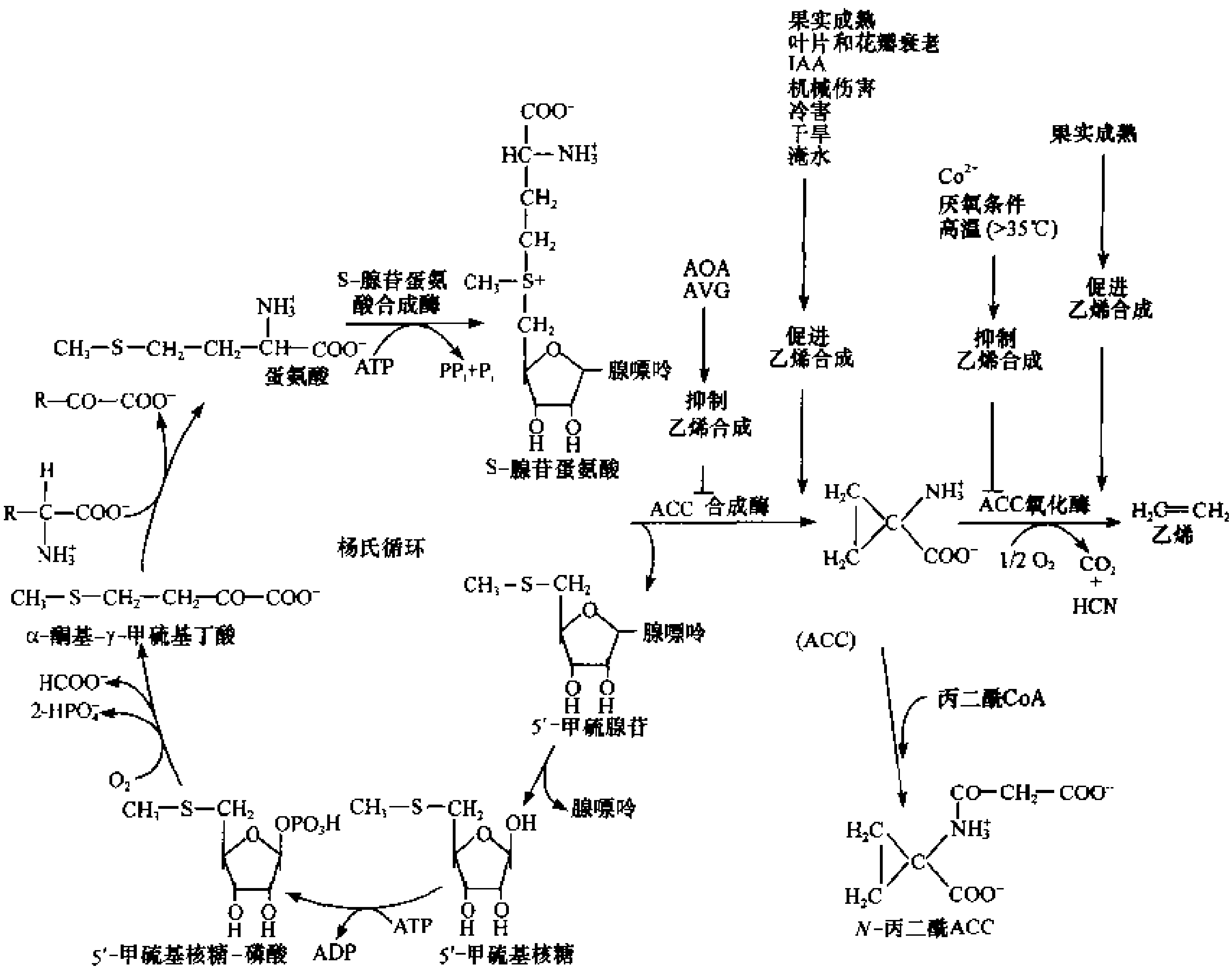



图 12-36 乙烯生物合成途径及杨氏循环

图中标注了各种因素对乙烯生物合成的影响。

催化AdoMet生成ACC的酶是ACC合成酶(ACC synthase)(图12-36)。ACC合成酶存在于细胞质内,含量极低且不稳定;该酶的活性受一些内外因子的调节,例如机械损伤、干旱、淹水以及生长素等都能刺激该酶的活性。

许多植物的 ACC 合成酶基因都得到了克隆，ACC 合成酶蛋白的氨基酸序列与植物的氨基转移酶非常相似，氨基转移酶催化氨基酸之间的氨基转移反应，这类酶需要以磷酸吡哆醛(维生素 $B_6$)作为辅基。

ACC 合成酶的另外一个特点是多基因家族。例如在西红柿中，至少有 9 种 ACC 合成酶基因，不同基因的诱导因素也有差异，生长素、机械损伤或果实成熟等可以分别诱导不同的 ACC 合成酶基因表达。

乙烯生物合成的最后一步，即 ACC 转变为乙烯的反应是由 ACC 氧化酶 (ACC oxidase)催化的(图 12-36)。该酶以前被称为乙烯形成酶(ethylene-forming enzyme)。该酶不是乙烯生物合成途径中的限制酶。ACC 氧化酶的基因已被克隆，其氨基酸序列与植物中 $Fe^{2+}$/抗坏血酸为辅基的氧化酶类非常相似。ACC 氧化酶的生化分析也表明，该酶在催化反应时必须有 $Fe^{2+}$ 和抗坏血酸作为辅基。和 ACC 合成酶一样，ACC 氧化酶也是由多基因家族编码的，其转录受多种内外因素的调节。

植物组织(包括那些乙烯发生量较大的组织，如成熟的果实等)中的蛋氨酸含量较低，但总是维持在一个比较稳定的水平。已知蛋氨酸是乙烯生物合成的惟一前体，在乙烯发生量较高的情况下就需要持续不断的蛋氨酸供应。如图 12-36 所示，植物组织依靠杨氏循环持续不断地供应乙烯合成需要的蛋氨酸。

在植物组织中并不是所有的 ACC 都转变为乙烯的，ACC 还可以被转化为一种稳定的结合物形式，即 *N*-丙二酰基 ACC(*N*-malonyl ACC)(图 12-36)，该化合物不容易被降解，可以在植物组织中发生积累。ACC 形成的另外一个结合物是 1-(α-L-谷氨酰)-环丙烷-1-羧酸[1-(α-L-glutamylamino)cyclopropane-1-carboxylic acid，GACC]，ACC 结合物的形成对调节乙烯的生物合成具有重要意义，可能与生长素和细胞分裂素结合物的功能相似，即起着可逆的失活和储存功能。

**2. 乙烯生物合成的调控**

乙烯的生物合成受许多因素的调节，如发育状态、环境情况、物理或化学伤害以及其他植物激素等。下面我们列举若干影响因素并加以讨论。

(1) 乙烯生物合成的促进因素

1) 果实成熟诱导的乙烯。果实成熟时，乙烯的合成速率迅速增加。乙烯生物合成的增加伴随着 ACC 合成酶、ACC 氧化酶活性的增加，同时也伴随着编码这两种酶的 mRNA 水平的增加。实验还表明，给未成熟的果实施用外源 ACC 只能促进乙烯合成少量增加，所以在果实成熟时 ACC 氧化酶活性的增加是一个关键步骤。

2) 逆境诱导的乙烯。许多逆境因素如干旱、淹水、冷害或机械损伤等，都会增加乙烯的生物合成。这种逆境诱导的乙烯合成的增加，主要是由于 ACC 合成酶 mRNA 转录水平的增加引起的。这些"逆境乙烯"通常会诱导一些植物的抗逆反应，如脱落、衰老、愈伤形成以及抗病性形成等。

3) 生长素可以诱导乙烯的合成。我们已经知道，在许多情况下，生长素和乙烯能产生相同的生理效应，例如菠萝开花的诱导、抑制茎的伸长生长。这是因为生长素可以增加 ACC 合成酶 mRNA 的转录水平，促进 AdoMet 转化为 ACC，从而促进乙烯的生物合成。事实上，原来许多认为是生长素的生理效应，实际上是生长素诱导的乙烯的作用。

(2) 乙烯生物合成和生理作用的抑制因素　乙烯的生物合成和生理作用可以被许多内外因素所抑制。在研究和生产中得到大量应用的是氨基乙氧基乙烯基甘氨酸(aminoethoxyvinylglycine，AVG)和氨基氧乙酸(aminooxyacetic acid，AOA)两种乙烯生物合成抑制剂，AVG 和 AOA 是以磷酸吡哆醛为辅基的酶的特异抑制剂，因为 ACC 合成酶也是一种以磷酸吡哆醛作为辅基的酶，所以 AVG 和 AOA 可以抑制 AdoMet 转变为 ACC (图 12-36)。

钴离子($Co^{2+}$)也是乙烯生物合成的抑制剂，它阻抑乙烯生物合成的最后一步，即 ACC 转化为乙烯的反应。

银离子是乙烯生理作用的最有效的抑制剂，但是并不抑制乙烯的合成。通常应用的有硝酸银

($AgNO_3$)或硫代硫酸银[$Ag(S_2O_3)_2^{3-}$]。银离子对乙烯生理作用的抑制作用非常特异，不能被其他金属离子模拟。

$CO_2$在高浓度(5%～10%)情况下可抑制乙烯的许多生理作用，例如抑制乙烯诱导的果实成熟。这种现象经常在果蔬保鲜储存中得到应用。由于能够达到抑制乙烯作用的二氧化碳的浓度非常高，所以在自然条件下，$CO_2$不可能是乙烯的竞争性抑制剂。

反式环辛烯(trans-cyclooctene)是目前发现的最强的一种乙烯竞争性抑制剂，它可能是乙烯与受体结合的竞争性抑制剂。

**3. 乙烯的运输**

乙烯是气态激素，在植物体内的运输性较差。乙烯的短距离运输可以通过细胞间隙进行扩散，但是扩散距离非常有限。例如在病菌感染植物细胞后，该细胞产生的乙烯会向周围细胞扩散诱导细胞的抗逆性和衰亡反应。

乙烯的长距离运输依靠其直接前体 ACC 在木质部溶液中的运输。例如在根系淹水条件下，植物上部叶片会发生乙烯诱导的典型反应——偏上生长(图 12-37B)。这是因为水使根系周围的土壤空气急剧减少，根系内产生的大量 ACC 由于缺氧无法转变为乙烯而发生积累，便通过蒸腾流向上运输。运输到地上部的 ACC 可以迅速转变为乙烯发挥作用。这里 ACC 是作为一个可以运输的化学信号，是乙烯长途运输的"载体"。

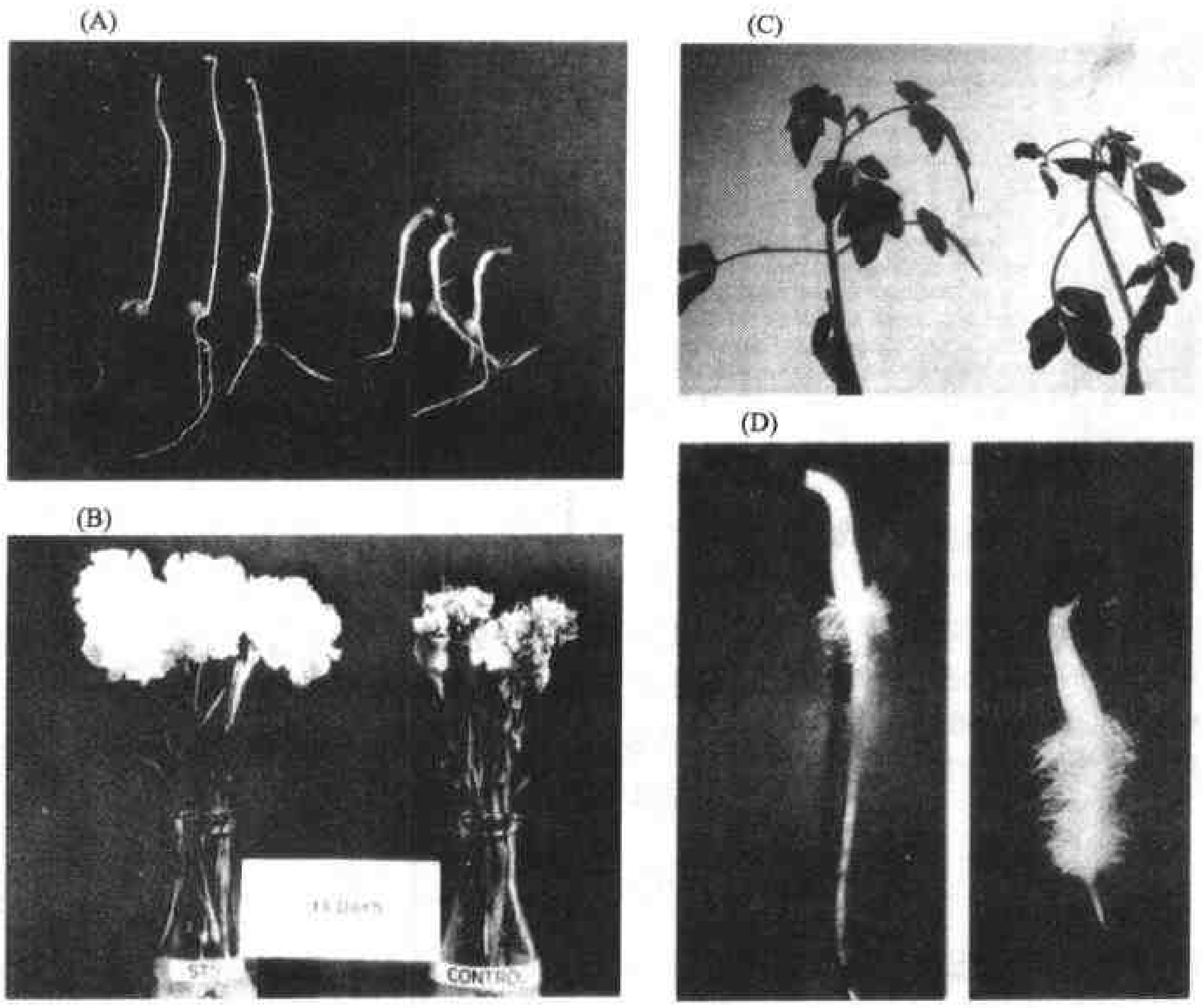



图 12-37　乙烯对植物的各种生理作用(Taiz & Zeiger　1998)

(A)黄化豌豆苗的"三重反应"，六天龄幼苗用 10ppm 乙烯处理(右)，和对照(左)相比，表现出径向增粗生长、上胚轴伸长生长抑制和偏上生长；(B)乙烯处理导致的番茄叶片发生偏上生长(即向下弯曲生长)，导致偏上生长的原因是叶柄上侧细胞生长快于下侧细胞；(C)用乙烯作用抑制剂硫代硫酸银(STS)可以显著延迟康乃馨花的衰老速度；(D)乙烯促进莴苣幼苗根毛发生。用 10ppm 乙烯处理 2 日龄的莴苣幼苗 24 小时(右)，比对照(左)具有更多的根毛发生。

## 三、乙烯的生理功能

乙烯对幼苗生长的“三重反应”和乙烯促进果实成熟的现象，导致了乙烯的发现。实际上，乙烯对植物生长发育的影响是非常广泛的，包括种子萌发、细胞扩张、细胞分化、开花、衰老和脱落。

### （一）乙烯的三重反应

所谓乙烯的三重反应（triple response）就是当植物幼苗放置在含有适当浓度乙烯（0.1 pL/L 以上）的密闭容器内，会发生茎伸长生长受抑制、侧向生长（即增粗生长）、上胚轴水平生长的现象（图 12-37A），这就是所谓的三重反应。另外，乙烯还抑制双子叶植物上胚轴顶端弯钩的伸展，引起叶柄的偏上生长。

乙烯的三重反应是乙烯的典型生物效应，作为乙烯的生物测定方法，具有特异、灵敏和快速的特点。当然，这种方法是不能进行精确定量的，利用气相色谱法进行乙烯的定量十分快速方便。

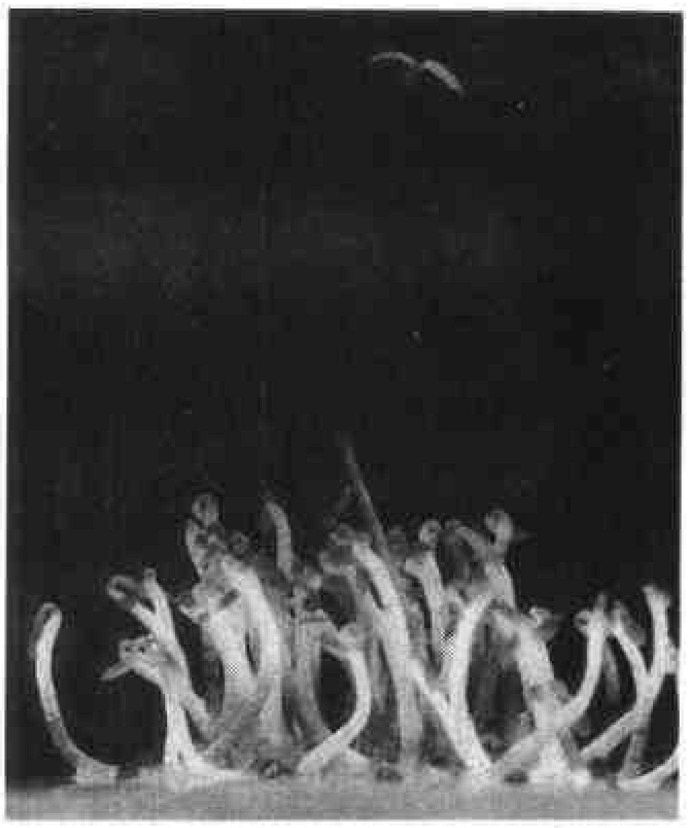


图 12-38 拟南芥 *etr1* 突变体的筛选
（Taiz & Zeiger 1998）
拟南芥幼苗在乙烯存在的条件下避光培养 3 天，大部分幼苗表现出典型的三重反应，只有一株突变体表现出和空气中生长相同的形态，表明 *etr1* 突变体对乙烯完全不敏感。

乙烯的三重反应在各种植物中非常普遍，不仅上述豌豆等双子叶植物幼苗对乙烯有三重反应，而且象燕麦、小麦等单子叶植物的胚芽鞘和中胚轴（mesocotyl）对乙烯也有三重反应。模式植物拟南芥对乙烯的反应包括上胚轴的生长抑制和增粗生长、根系伸长生长的抑制以及顶端弯钩伸展的抑制（图 12-38）。这些典型的乙烯反应有助于筛选拟南芥的乙烯反应突变体。

在上述植物幼苗对乙烯的三重反应中，乙烯抑制茎的纵向生长却促进茎的横向生长，是因为乙烯影响了茎细胞内微管的排列状态，即乙烯减少了微管的横向排列，增加了微管纵向排列。微管纵向排列相应地增加了微纤丝的纵向沉积，限制细胞纵向扩张的幅度，却有利于膨压推动的细胞扩张生长向横向进行。

三重反应中的水平生长性质对种子幼苗生长具有重要意义，如果土壤中萌发的幼苗遇到障碍时，产生乙烯诱导上胚轴水平生长绕过障碍，有利于幼苗长出地面。同样的道理，乙烯对双子叶植物上胚轴顶端弯钩伸展的抑制，也是有利于保护幼苗长出地表的性质。因为弯钩是植物幼苗在穿透土层时保护幼嫩茎尖的重要机制。

### （二）乙烯促进果实的成熟

果实的成熟包括细胞壁果胶层酶解致使的果肉软化、淀粉水解和蔗糖积累、色素和香味物质的产生，还包括有机酸、酚类（单宁）含量的下降等。从植物发育的角度来看，果实成熟意味着果实中的种子可以散布，即借助于动物的采食进行种子的广泛传播。

乙烯是促进果实成熟的激素，不仅施用外源乙烯可以加速果实的成熟，而且在果实的自然成熟过程中，也伴随着乙烯高峰的产生。在后面的章节我们会学习到，果实成熟分为“呼吸跃变”（climacteric）和“非呼吸跃变”（nonclimacteric）两种类型。苹果、香蕉和番茄等都是呼吸跃变型果实，葡萄、柑橘等则属于非呼吸跃变型果实。外源乙烯处理呼吸跃变型果实可以导致果实自身乙烯的大量合成，即所谓乙烯发生的“自催化”性质，可以诱导呼吸高峰的产生，使果实快速成熟；而外源乙烯处理非呼吸

跃变型果实，虽然随着乙烯处理浓度的增加也能促进果实呼吸速率的增加，但是并不能诱导果实自身乙烯的合成，所以乙烯处理不能促进非呼吸跃变型果实的成熟。

乙烯合成的抑制剂(如 AVG)以及一些乙烯生理作用的抑制剂(如 $CO_2$ 或 $Ag^+$)可以延迟甚至完全抑制果实的成熟。近年来利用生物技术方法成功地制备了耐储存转基因番茄。其原理是将 ACC 合成酶或 ACC 氧化酶的反义基因导入植物，抑制果实内这两种酶的 mRNA 的翻译，并且加速 mRNA 的降解，从而完全抑制乙烯的生物合成，这样的果实只能用外源乙烯处理才能成熟。

## (三) 乙烯促进叶片衰老

衰老是植物基因程序表达的结果。而与叶片衰老控制关系最密切的植物激素就是细胞分裂素和乙烯。因为用外源乙烯或 ACC 处理叶片，可以促进叶片衰老，而用外源细胞分裂素则延迟衰老；其次，叶片内源乙烯发生量与叶片失绿和花瓣褪色程度呈正相关(图 12-37C)，而内源细胞分裂素水平与衰老程度呈负相关；利用乙烯生物合成抑制剂(如 AVG 和 $Co^{2+}$)或生理作用抑制剂(如 $Ag^+$ 和 $CO_2$)可以延迟叶片衰老。上述事实表明，叶片衰老是受组织内乙烯与细胞分裂素的平衡来控制的；另外，脱落酸也对叶片的衰老具有调节作用(参见本章第五节)。

关于乙烯参与叶片衰老调节的直接证据来自对拟南芥乙烯不敏感突变体的研究。根据拟南芥幼苗对乙烯的三重反应可以筛选出对乙烯不敏感的突变体，如 *etr1* 和 *ein2*，其中 *etr1* 是编码乙烯受体的基因发生了变异，而 *ein2* 是细胞内乙烯信号传递途径中的某个环节发生了变异(参见第十三章)。这两种突变体不仅在幼苗期对乙烯不敏感，而且在整个生长过程中，包括衰老过程都不受乙烯的影响。乙烯不敏感突变体的衰老速度较慢，整体寿命比野生型植株长约 30%，所以反过来我们可以这样理解，即乙烯不仅仅是诱导衰老的起始，而且能加快衰老的进行速度。

利用基因工程技术制备的耐储藏转基因植物，如前述的耐储藏转基因番茄，由于导入了 ACC 合成酶或 ACC 氧化酶基因的反义基因，造成乙烯合成障碍，所以和果实成熟受抑制一样，这些转基因植物的叶片衰老也被大幅度延迟。

## (四) 乙烯促进离层形成

许多植物的叶片、果实和花朵等器官在衰老后都会发生脱落。脱落发生在这些器官基部的一些特殊的细胞层，称为离层(abscission layers)。离层细胞在形态上和生理生化性质上都和周围其他细胞不同。在叶片衰老时，离层细胞的细胞壁在纤维素酶和果胶酶的作用下开始降解。乙烯是脱落过程的主要调节激素，叶片内的生长素可以抑制脱落的发生，但是过高浓度的生长素反而会诱导乙烯的发生，促进脱落。所以一些合成的生长素类化合物可以作为脱叶剂使用。例如 2,4,5-T，是和 2,4-D 类似的具有生长素活性的化合物，美军曾在越南战争中用作脱叶剂来对付丛林中的游击队。

叶片脱落的激素控制模式分为三个阶段(图 12-39)。

①正常阶段。在没有受到脱落信号诱导时，叶片保持健全的功能状态。叶片和茎之间维持一个从高到低的生长素浓度梯度，使离层处于一种不敏感状态；

②诱导阶段。随着叶片衰老的进行，从叶片到茎的生长素浓度梯度陡度下降或者成为反向的梯度，使离层细胞对乙烯敏感；

③脱落阶段。致敏的离层细胞在乙烯的诱导下，合成并分泌大量的纤维素酶、果胶酶等细胞壁水解酶类，使离层细胞壁发生裂解，离层细胞分离，最后导致叶片脱落。

在上述过程中，叶片和茎之间的生长素浓度梯度(而不是绝对量)决定着离层对乙烯的敏感性。例如在正常阶段除去叶片会促进叶柄的脱落，但是在除去叶片的切口处施用生长素则会抑制叶柄的脱落；在离层靠近茎的一侧施用生长素加速叶柄的脱落。在脱落诱导阶段，叶片中的生长素水平下降

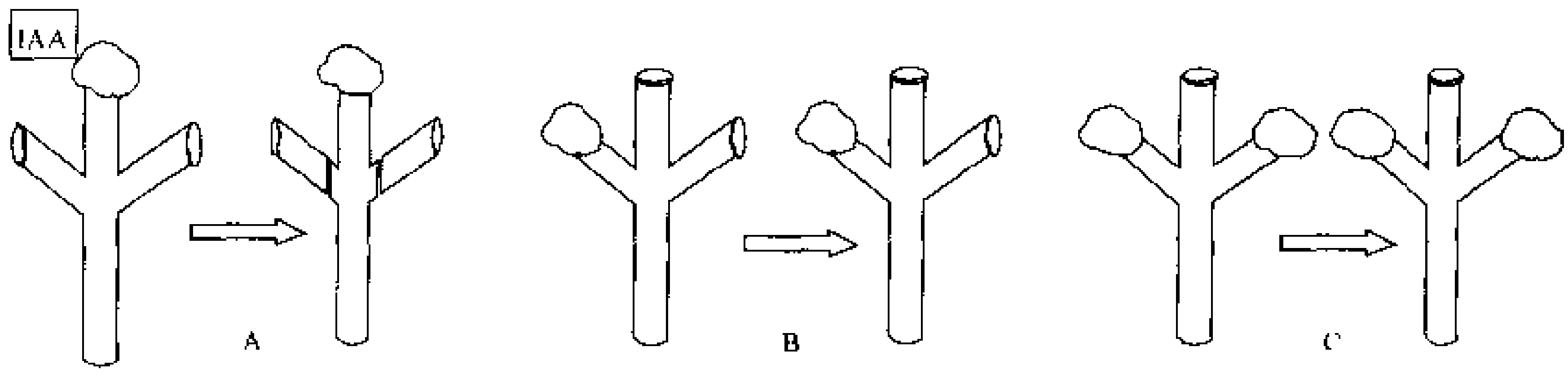



图 12-39 叶片脱落过程中乙烯和生长素的相互作用示意图

将植物切段去掉叶片但保留叶柄，经历两天左右叶柄基部会形成离层脱落，如果在主茎上端切口放上含有适量 IAA 的棉花团，会显著促进叶柄的脱落(A)；但是在叶柄切口上端放上含 IAA 的棉花团的时候，则会抑制叶柄的脱落(B、C)。

而乙烯发生的水平升高，叶片中升高的乙烯水平不仅抑制生长素的合成，而且会加速生长素的降解。叶片中生长素水平的下降增加了离层细胞对乙烯的敏感性；上述事实说明生长素和乙烯在脱落的控制中是协同作用的。

### （五）乙烯诱导不定根和根毛发生

乙烯可以诱导茎段、叶片、花茎甚至根上的不定根发生。乙烯的这种生理效应需要较高的浓度(10 μL/ L)。乙烯还能够刺激根毛的大量发生(图 12-37D)。

拟南芥的根毛通常发生在与皮层细胞具有连接层的表皮细胞上，但是乙烯处理根系后，根毛发生会产生“异位”(ectopic location)现象，即在那些下而没有连接层的表皮细胞上分化根毛。生长在含有乙烯抑制剂(如 $Ag^+$)的基质上的幼苗或者乙烯不敏感突变体幼苗根毛稀少。这些事实说明乙烯能促进根毛分化。

### （六）乙烯的其他生理功能

虽然乙烯抑制许多植物开花(例如乙烯可以抑制芒果开花)，但是乙烯能诱导和促进菠萝及其同属植物开花，所以在菠萝栽培中被用来诱导同步开花，达到坐果一致的目的。在雌雄异花同株类型的植物中，乙烯可以在花的发育早期改变花的性别分化方向，例如乙烯可以促进黄瓜雌花的发育。

此外，乙烯作为“伤害激素”在植物抗逆反应中发挥着重要的作用(参见第十九章)。

# 第七节　其他植物生长物质

## 一、油菜素内酯

### （一）油菜素内酯的发现

油菜素内酯最早是从油菜(*Brassica napus*)花粉中分离出的，在利用菜豆第二节间进行的生物试验中表现了极高的生物活性；Grove(1979)确定了油菜素的结构，并定名为油菜素内酯(brassinolide, BR)。后来，又从许多植物中分离出多种油菜素内酯类似物(brassinosteroid)，目前已知的天然油菜素内酯类化合物有 60 余种。油菜素内酯极高的生物活性，激发了人们极大的研究兴趣。而且随着油菜素内酯生物合成途径的逐渐阐明，以及拟南芥油菜素内酯突变体研究的进展，在第十六届国际植物生长物质年会上被正式确认为第六类植物激素。

## （二）油菜素内酯的结构及其与生物活性的关系

虽然动物体内存在着许多甾类激素，如雌二醇、孕酮等，但是油菜素内酯是植物中发现的第一种甾类激素，其结构如图 12-40 所示。

油菜素内酯具有极强的生理活性，其结构与生物活性的关系也十分密切。活性油菜素内酯必须具备如下结构特征：①A/B 环为反式；②B 环含有 7 位内酯和 6 位酮基；③A 环上具有 2 位和 3 位两个羟基；④侧链 22 位 23 位具有羟基；⑤侧链 24 位上有 1～2 个 C 的取代基；根据这些特征，目前人工合成了许多种类的油菜素内酯，如表油菜素内酯（24-epi- brassinolide）、高油菜素内酯（28-homobrassinolide）以及长效油菜素内酯 TS303（图 12-40）。

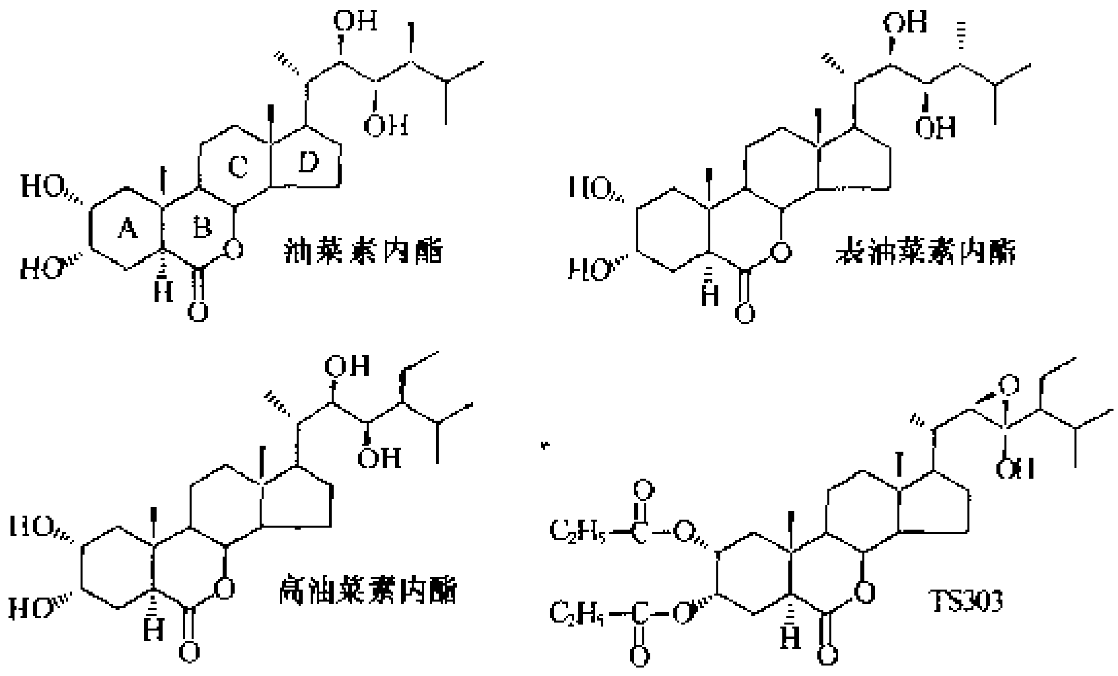



图 12-40　油菜素内酯及若干人工合成的油菜素内酯结构示意图

## （三）油菜素内酯的生物合成

油菜素内酯的合成途径如图 12-41 所示，利用同位素标记和突变体进行的试验表明，油菜素内酯的合成途径是从菜油甾醇（campesterol）→campestanol→cathasterone→茶甾醇（teasterone）→油菜素内酯（brassinolide）。其中催化菜油甾醇→campestanol 反应酶的基因 *DET2* 和催化 cathasterone→茶甾醇反应的酶基因 *CPD* 已经得到克隆，前者是一种甾醇-5α-还原酶（steroid- 5α-reductases），后者是一种含细胞色素 P450 的甾醇羟化酶（steroid hydroxylase）。

## （四）油菜素内酯的生理功能

油菜素内酯生理功能的研究有很长的历史，而且积累了大量的资料。例如发现外源油菜素内酯具有促进离体茎段内的细胞分裂和细胞伸长、抑制根系生长、促进植物向地性反应、促进木质部导管分化以及抑制叶片脱落等生理作用。由于这些生理作用与一些已知的植物激素如生长素、赤霉素等具有很大的相似性，到底油菜素内酯是不是一个有独立作用性质的、植物生长发育不可缺少的所谓“激素”呢？长期以来人们对此争论颇多。对油菜素内酯生理功能的确切了解，来源于对拟南芥油菜素内酯生物合成突变体的研究，这些研究也确立了油菜素内酯作为植物激素的地位。

拟南芥的 *det2* 突变体和 *cpd* 突变体（constitutive photomorphogenesis and dwarfism，组成性光形态建成和矮化突变体）两者具有完全相同的表型特征。这两种突变体在黑暗条件下培养时，能够表现出许多光形态建成的特征，例如下胚轴短粗、子叶和真叶展开、花青素合成等，与正常拟南芥在黑暗条件下培养发生黄化现象（etiolation）（参见第十五章）截然相反。这些突变体在光下生长时也表现出一些特殊的性状，如叶片小且浓绿，顶端优势减弱、花粉育性差，同时有较长的营养生长期，叶片和叶绿体的衰老延迟，甚至在种子成熟或离体情况下叶片仍然保持绿色。对克隆的 *DET2* 基因和 *CPD* 基因进行的分析表明，这两种基因编码的都是与动物甾类激素合成有关的酶类，而植物体内发现的甾类生长物质只有油菜素内酯，因此进行了培养基内添加油菜素内酯的试验，结果表明，添加油菜素内酯可以完全恢复拟南芥 *det2* 突变体和 *cpd* 突变体的野生表型。通过同位素标记前体添加试验进行的代谢分析试验也揭示了 *det2* 和 *cpd* 的突变位点在油菜素内酯生物合成途径之上（图 12-41）。

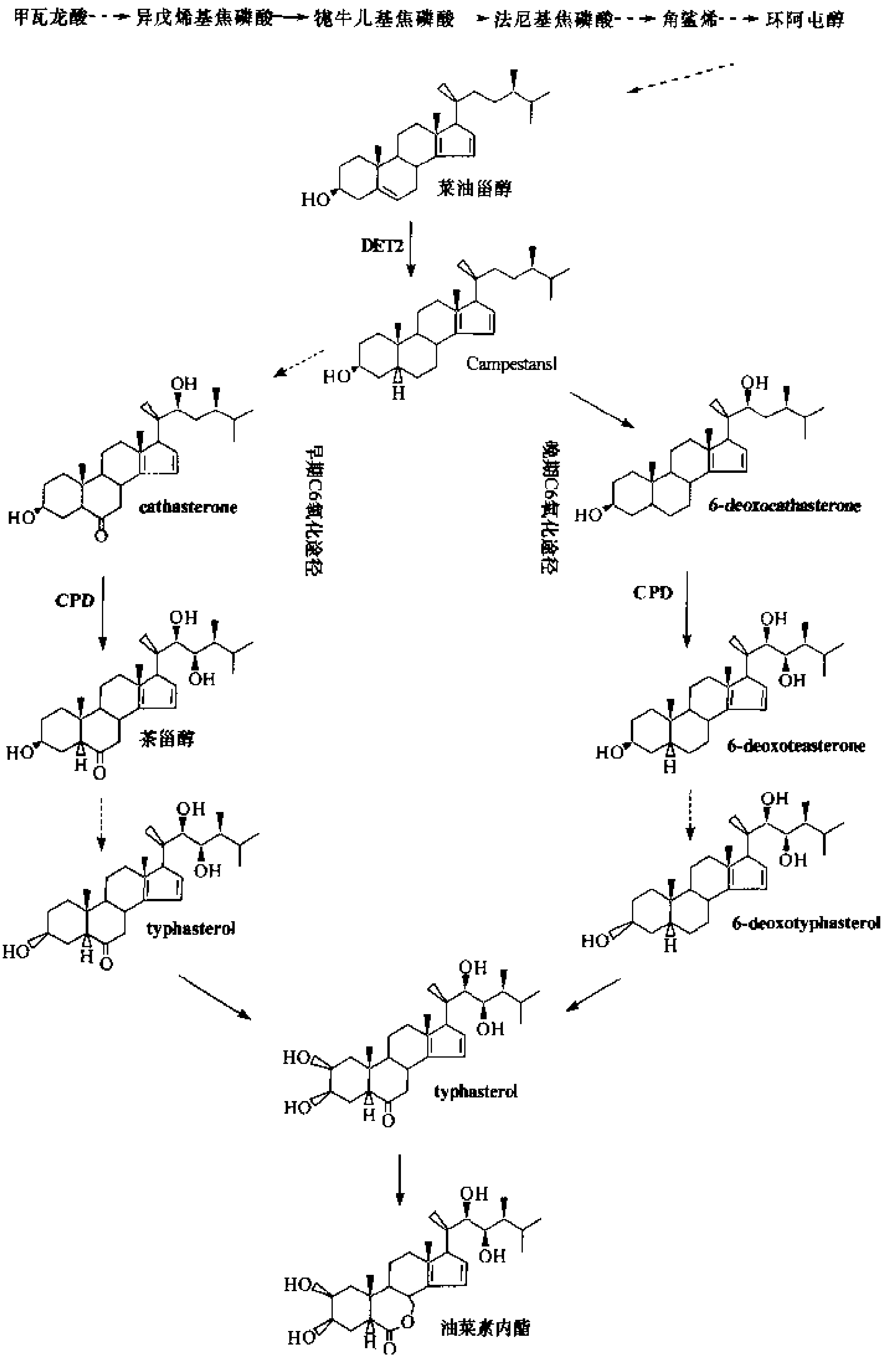



图 12-41 油菜素内酯的生物合成途径

DET2 和 CPD 分别表示 *det2* 和 *cpd* 突变体的突变位点。

这些研究结果表明，油菜素内酯在植物的光形态建成和其他一些生长发育过程中起着重要的调节作用。这些过程包括一些光诱导的基因表达、细胞伸长生长、叶片和叶绿体衰老以及开花诱导等。

关于油菜素内酯作用的分子机制，即油菜素内酯信号传递过程的研究在广泛而深入地进行。目前筛选到的拟南芥油菜素内酯不敏感突变体总数有 20 个，令人惊奇的是所有这些突变体的突变位点存在于同一基因上。通过序列分析证明，该基因编码一种富含亮氨酸的受体激酶(leucine-rich receptor-like kinase, LRR RLK)，由此推断油菜素内酯的受体可能是存在于质膜上的 LRR 受体激酶。动物甾类激素大多是与胞内受体结合作为转录因子发挥作用的，但是也有证据表明动物甾类激素也可以与质膜上的受体结合，油菜素内酯质膜受体的发现，可能会对动物甾类激素膜受体的发现有所启发。

## 二、茉 莉 酸

茉莉酸(jasmonic acid, JA)及其甲酯(methyl jasmonate, MJ)(图 12-42)广泛地存在于各种植物中，目前在 150 属 206 种植物(包括真菌、苔藓和蕨类)中都有发现。因为茉莉花油中 JA 含量较高，故得名。茉莉酸结构类似物大约有 20 种，统称为茉莉酸(jasmonate, JA)。茉莉酸的生物合成途径起源于膜脂代谢形成的亚麻酸(linolenic acid)。该合成途径的关键酶是脂肪氧合酶(lipoxygenase)。

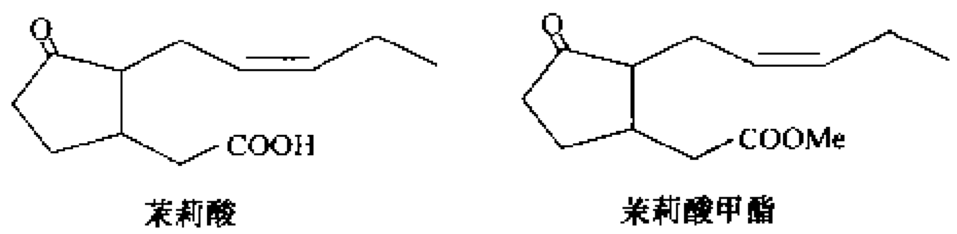



图 12-42 茉莉酸和茉莉酸甲酯化学结构

JA 对植物的生理作用是多方面的，但是大量的研究结果证明，茉莉酸(酯)是抗性相关的植物生长物质。尤其是植物受到创伤时，受创伤信号系统素的诱导在细胞内合成茉莉酸，进而诱导一系列与抗逆有关的基因表达，例如目前发现的大量茉莉酸诱导蛋白(jasmonic acid induced protein, JIP)大部分是植物抗逆相关蛋白，包括蛋白酶抑制剂、植保素合成途径中的关键酶如 PAL、查耳酮合成酶等，JIP 中还有一种是脂肪氧合酶，所以推测茉莉酸可以刺激自身的生物合成。

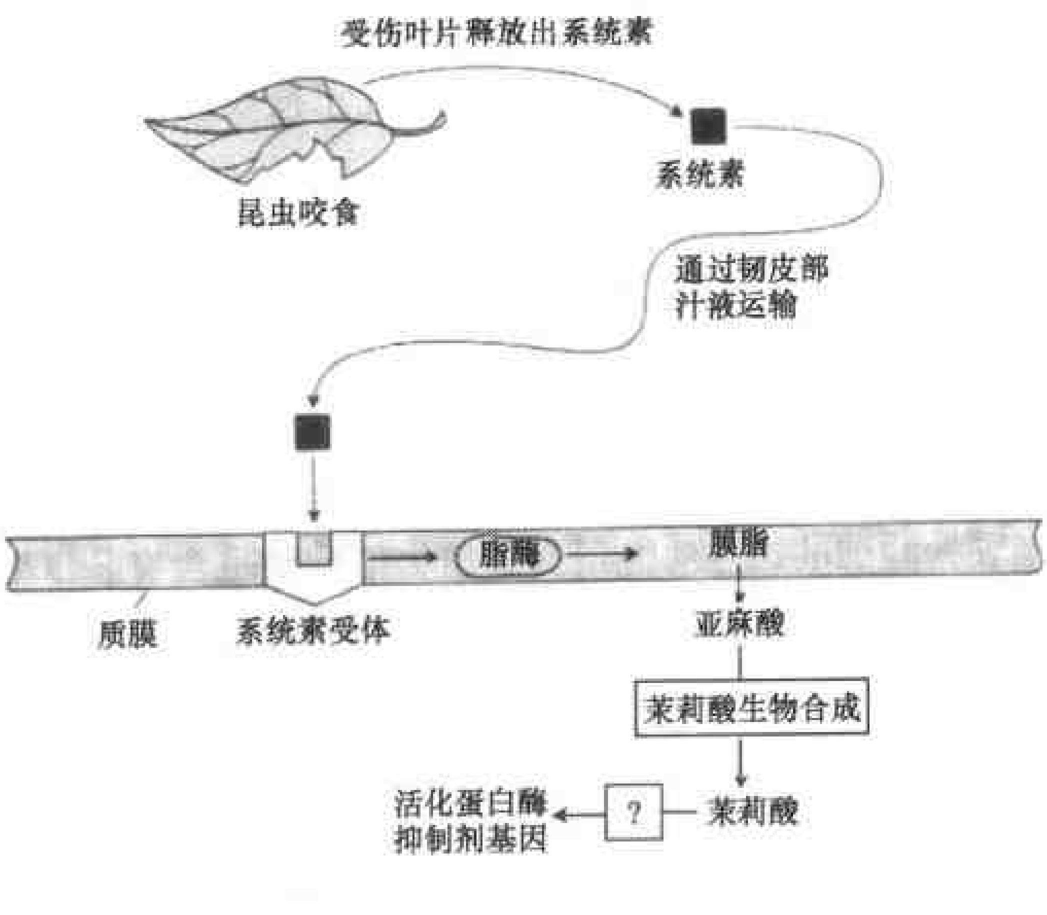



图 12-43 系统素和茉莉酸在植物抗虫机制中的作用
(Taiz & Zeiger 1998)
昆虫咬食诱导植物合成系统素，系统素通过韧皮部运输到其他部位，通过与相应受体结合，诱导茉莉酸的合成，茉莉酸通过一未知的机制活化蛋白酶抑制剂基因，使植物获得系统抗虫性。

茉莉酸(酯)在植物伤害反应中的作用如图 12-43 所示。另外，支持茉莉酸(酯)作为机械刺激或创伤信号分子的一个有趣的试验是攀援植物卷须试验。试验结果表明，机械刺激诱导的不均等快速生长反应导致卷须的盘曲，而亚麻酸可以代替机械刺激诱导卷须的盘曲，而且很低水平的茉莉酸(纳克水平)可以产生相同的效应，即空气中释放的茉莉酸甲酯就足以代替机械刺激诱导卷须的盘曲反应。这个试验证明，茉莉酸是机械刺激的最有效的信号分子。

## 三、其他内源植物生长物质

### (一) 水 杨 酸

水杨酸(salicylic acid, SA)即邻羟基苯甲酸，其化学结构如图 12-44 所示。其生物合成途径是植物体内的反式肉桂酸

经 β-氧化产生苯甲酸，再经羟化形成水杨酸。植物体内的水杨酸除了游离形式之外，还可以以葡萄糖苷的形式存在，另外，植物中的水杨酸还可以以水杨酸甲酯的形式释放到空气中。

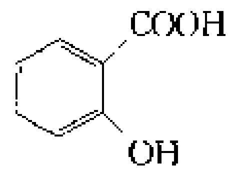


图 12-44 水杨酸的分子结构

水杨酸对植物有多种生理作用，如诱导某些植物开花，诱导烟草、黄瓜等植物对病原微生物的抗性。天南星科植物的佛焰花序产热的生热素就是水杨酸。

水杨酸最典型的生理作用是诱导植物产生系统获得性抗性（systemic acquaired resistance，SAR）（参见第十九章）。植物受到病原菌感染时，在感染部位会迅速积累高水平的水杨酸，运输到植物其他部位后会诱导 SAR 的产生。利用转基因植物进行的研究证明植物 SAR 的产生必须依赖水杨酸的作用。研究者将编码水杨酸羟化酶的细菌 *nahG* 基因导入烟草，水杨酸羟化酶能催化水杨酸形成儿茶酚，抑制植物体内的水杨酸积累。这种转基因烟草接种烟草花叶病毒 TMV 后，并不产生 SAR。这个试验说明水杨酸是植物产生 SAR 的必需因子。

有人证明水杨酸的结合蛋白（SA binding protein，SABP）是植物过氧化氢酶。水杨酸和过氧化氢酶结合，抑制该酶的活性，使细胞内的 $H_2O_2$ 水平上升，从而诱导植物细胞的抗逆基因的表达，增强植物的抗病性。水杨酸甲酯还可以作为一种气体信号，释放到空气中，远距离诱导其他植物部位产生 SAR，这是植物一种高效的免疫反应机制。

## （二）寡 糖 素

所谓寡糖（oligosaccharide），指的是少于 12 个糖基组成的糖链。已经知道蛋白质表面的寡糖基团在分子识别等方面具有重要的生物功能。而植物细胞中许多游离的寡糖也具有广泛的生物活性，尤其是在调节植物对逆境的防御功能方面具有重要意义。具有生物活性的寡糖统称为寡糖素（oligosaccharin）。

目前已知的寡糖素大多是一些植物细胞壁和真菌细胞壁结构多糖的降解物，如真菌 β-寡葡聚糖（fungal oligo-β-glucan）、木葡聚糖类寡糖（xyloglucan-drived oligosaccharide）、几丁质类寡糖（chito-oligosaccharide）等。

报道的寡聚糖素生物活性包括作为激发子（elicitor）刺激植保素的产生、诱导活性氧突发（oxidative burst）、诱导乙烯合成、诱导病程相关蛋白（PR）（如几丁质酶、葡聚糖酶等）合成以及诱导逆境信号分子的产生等。其中研究最为深入的功能是寡糖素作为植保素激发子的功能。例如，真菌 *Phytophthora* 在感染植物组织时分泌一种内切多聚半乳糖酸酶（endoploygalacturonase）（果胶酶的一种），水解植物细胞壁的果胶质产生一些果胶质片段——寡聚半乳糖醛酸（oligogalacturonan），可以诱导植物产生抗病反应；其中 12～13 个单位的寡聚半乳糖醛酸的诱导活性最高。植物细胞壁也含有 β-D-葡聚糖酶（β-D-glucanase），可以降解真菌的细胞壁产生有激发子活性的寡聚葡聚糖片段。这些寡糖素是病原菌侵染植物细胞的预警信号物质。

寡糖素也可以调节植物正常细胞的生长发育。例如，由木葡聚糖衍生的一种特殊的癸糖（nonasaccharide）XG9 可以抑制生长素刺激的细胞伸长生长。XG9 可能是生长素诱导的细胞伸长生长的一种反馈控制因子，因为生长素诱导细胞壁松弛的过程中，会降解细胞壁中的木葡聚糖，这种反馈抑制机制的存在，可以防止细胞壁的过度降解。

## （三）系 统 素

系统素（systemin，SYS）是从受伤的番茄叶片中分离出的一种 18 个氨基酸组成的多肽，其一级结构为 AVQSKPPSKRDPPKMQTD，是植物感受创伤的信号分子，在植物防御反应中起重要的作

用。虽然动物中有大量的多肽激素，但是 SYS 是植物中发现的第一种多肽类的生物活性物质。

在植物中存在一种 200 个氨基酸的多肽称为原系统素（prosystemin），经蛋白酶加工后可以形成 SYS，原系统素的基因已经得到克隆。利用转基因植物进行的试验表明，SYS 是诱导植物抗逆反应如蛋白酶抑制剂合成的必要因子。例如将原系统素的反义 cDNA 和 35S CaMV 启动子整合后导入番茄植株，导致该转基因植物在创伤条件下蛋白酶抑制剂的产生受到严重阻碍。证明 SYS 是植物创伤反应的信号分子。

SYS 具有很高的生物活性，例如在极低的浓度下（10～15fmol/L）就可以诱导植物抗逆基因的表达；SYS 在植物体内具有良好的运输性，这些因素使 SYS 成为一个优良的创伤信号分子，在植物防御病虫侵染的机制扮演重要的角色（图 12-43）。

## （四）多　胺

多胺（polyamine）是植物体内一类具有生物活性的低分子质量脂肪族含氮碱，含有一个或多个胺基，包括赖氨酸和精氨酸。植物体内中含量最丰富的多胺有腐胺（putrescine）、精胺（spermine）、亚精胺（spermidine）（图 12-45）。多胺主要分布于植物的分生组织内，有刺激细胞分裂、促进生长和防止衰老的作用。在花芽形成与开花、花粉管生长、胚胎发生、果实生长、不定根发生等生理过程中具有显著的生理作用。

多胺的作用机制尚不清楚，据推测因为它们具有正电性的胺基，可以和核内 DNA 或核糖体的 mRNA 上的负电性的磷酸基团结合，促进 DNA 的转录和 mRNA的翻译。但是，从严格意义上讲，多胺并不是符合植物激素的条件，因为多胺不具有运输性，生理浓度过高（mmol/L）（传统植物激素的作用浓度在 μmol/L 水平），所以只能将多胺认为是一种生长调节物质。

$H_2N-(CH_2)_4-NH_2$

腐胺

$H_2N-(CH_2)_3-NH-(CH_2)_4-NH_2$

亚精胺

$H_2N-(CH_2)_3-NH-(CH_2)_4-NH-(CH_2)_3-NH_2$

精胺

图 12-45　三种主要多胺的结构示意图

# 小　结

植物生长物质是指一些小分子化合物，它们在极低的浓度下便可以显著地影响植物的生长发育等生理功能，包括天然存在的植物内源激素和人工合成的植物生长调节剂。其中主要的植物激素有生长素、细胞分裂素、赤霉素、脱落酸、乙烯和油菜素内酯等。

生长素是第一个被发现的植物激素。生长素在植物的茎尖合成，生长素的生物合成途径有色氨酸依赖途径和非色氨酸途径；生长素沿茎或根进行传输，具有典型的极性运输性质；生长素的代谢主要是氧化降解和结合物的形成；生长素在茎切段试验和胚芽鞘试验中表现出刺激细胞伸长生长的作用，酸生长理论是解释生长素促进细胞伸长生长的经典理论。生长素的主要生理作用还包括诱导不定根发生、促进维管束分化、控制向性生长和顶端优势，以及调节植物开花坐果等生理过程。

赤霉素的生物合成分为三个步骤，分别为环化反应生成贝壳杉烯、氧化反应生成 $GA_{12}$醛、由 $GA_{12}$醛形成所有其他的赤霉素；其中最后一个步骤又分为早期 C13 羟化途径和早期 C13 非羟化途径两条途径，分别合成两种在植物体内具有最高活性的赤霉素 $GA_1$ 和 $GA_4$。赤霉素的生物合成具有明显的器官特异性，并受发育阶段和各种环境因素的控制；赤霉素的典型生理作用就是显著地促进植物的茎节的伸长生长，并在从种子萌发到开花结果等植物的各种生理现象中扮演重要的角色。

细胞分裂素是在研究植物组织培养中促进细胞分裂因子的过程中发现的。植物细胞分裂素的主要合成途径是从头合成途径，即异戊二烯焦磷酸和 5′-AMP 在细胞分裂素合成酶的催化下经过缩合

反应形成 iPMP，再经过脱磷酸化形成 iPA，最后脱核糖形成 iP。从 iPMP、iPA 和 iP 可以转化为相应的玉米素核苷单磷酸、玉米素核苷或玉米素，再进一步转化为相应的双氢玉米素核苷单磷酸、双氢玉米素核苷和双氢玉米素。植物细胞分裂素的主要合成部位是根尖分生组织。根尖内合成的细胞分裂素通过导管液向上运输到植物地上器官发挥生理调节作用。细胞分裂素不仅促进细胞分裂，而且在其他多种生长发育过程中，如抑制叶片衰老、吸引养分运输、顶端优势、芽休眠打破、花及果实发育以及种子发芽等，都起着重要的生理调节作用。另外，细胞分裂素还参与光调节的一些生理过程中，包括叶绿体分化、植物子叶扩张以及自养代谢的发育等。

高等植物体内脱落酸生物合成为 C40 途径，即从异戊二烯基焦磷酸(IPP)开始，到紫黄质，最后到 ABA。ABA 的失活代谢包括氧化降解和形成结合物两个途径。脱落酸具有自己独特的功能，例如作为生长抑制剂对生长具有抑制作用、对气孔开闭具有调节作用，脱落酸还可作为逆境激素，在植物逆境抗性中起关键的作用。脱落酸在种子发育和休眠中也具有重要功能。另外，在某些条件下，脱落酸具有许多生育促进的性质。

乙烯是一种气态的植物激素，其生物合成的前体是蛋氨酸，经过所谓的“杨氏循环”，从蛋氨酸到 S-腺苷蛋氨酸，再到 ACC，最后形成乙烯，乙烯生物合成中的关键酶是 ACC 合成酶和 ACC 氧化酶。乙烯的生物合成受诸如发育状态、环境情况、物理或化学伤害以及其他植物激素等因素的影响。乙烯对幼苗生长的“三重反应”和乙烯促进果实成熟是乙烯重要的生理作用，乙烯对植物生长发育的影响还包括种子萌发、细胞扩张、细胞分化、开花、衰老和脱落。

油菜素内酯是植物中发现的第一种甾类激素，在极低浓度下具有极强的生理活性，如促进离体茎段内的细胞分裂和细胞伸长、抑制根系生长、促进植物向地性反应、促进木质部导管分化以及抑制叶片脱落等。油菜素内酯在植物的光形态建成和其他一些生长发育过程中起着重要的调节作用，包括一些光诱导的基因表达、细胞伸长生长、叶片和叶绿体衰老以及开花诱导等。

其他内源植物生长物质包括水杨酸、寡糖素、系统素等，这些物质在调节植物对逆境胁迫的防御功能方面具有重要意义。

**思考题**

(1) 植物激素、植物生长物质、植物生长调节剂的定义是什么？

(2) 活性生长素的结构特征是什么？

(3) 生长素生物合成有几种类型？

(4) 什么是生长素的极性运输？生长素极性运输的机理如何？试设计一个试验证明生长素的极性运输性质？

(5) 简述生长素促进细胞伸长生长的酸生长理论。

(6) 活性赤霉素和非活性赤霉素的结构特征是什么？

(7) 简述赤霉素生物合成的三个阶段及其关键酶。

(8) 什么是赤霉素生物合成的器官特异性？

(9) 简述赤霉素生物合成的调控因素。

(10) 简述赤霉素的生理功能。

(11) 植物细胞分裂素有哪些种类？活性细胞分裂素有哪些？

(12) 细胞分裂素生物合成的关键酶是什么？

(13) 生长素和细胞分裂素协同控制细胞分裂周期的机制是什么？

(14) 以组织培养中根/芽分化为例说明生长素和细胞分裂素是如何控制植物器官分化的。

(15) 设计试验证明细胞分裂素具有延迟衰老和诱导同化物积累的效应。

(16) 脱落酸的分子构型有哪些？天然脱落酸的分子构型是什么？

(17) 为什么说植物中脱落酸的生物合成主要是 C40 途径?

(18) 在种子发育和休眠过程中脱落酸有哪些生理作用?

(19) 昼夜交替过程中脱落酸是如何控制气孔开闭的?

(20) 为什么说脱落酸是逆境激素?

(21) 简述乙烯生物合成途径及其关键酶。

(22) 简述促进和抑制乙烯合成的因素。

(23) 什么是乙烯的三重反应?

(24) 乙烯在果实成熟过程中有什么作用? 如何利用基因工程技术获得耐储藏番茄?

(25) 举例说明乙烯的生理作用。

# 第十三章　植物激素作用机理

## 第一节　生　长　素

研究植物激素作用的分子机理，就是探讨从激素与受体结合开始到生理效应发生为止的信号传递链，以及该传递链上每个环节的分子组成和反应模式。所以本节首先介绍目前关于生长素受体的知识，然后讨论细胞内生长素信号传递的可能途径，最后是生长素调节的基因表达。本章中讨论的其他激素作用机理也将按照这个顺序进行叙述。

### 一、生长素结合蛋白 ABP1

作为激素的受体，必须满足受体的基本定义，即：①和激素配体特异性结合；②和激素配体的结合具有饱和性；③诱导特定的生理效应（参见第十八章）。满足这些条件的生长素结合蛋白才能称为生长素受体。目前比较肯定的生长素受体是 ABP1。

在过去的研究中，曾根据生长素结合蛋白（auxin binding-protein，ABP）存在的位置将其命名为 ABP1（存在于位置 1，即内质网），ABP2（存在于位置 2，即质膜），ABP3（存在于位置 3，即液泡膜）。在过去 20 多年深入细致的研究中，发现绝大部分的生长素结合活性都与位置 1，即内质网有关。不仅如此，一些生长素类似物的生物活性与该化合物在内质网上的结合活性大致呈正相关。所以 ABP1 被认为最有可能是生长素受体。

从内质网上提纯的 ABP1，分子质量为 22kDa，是一个亲水性的糖蛋白，在体内以二聚体形式存在。编码 ABP1 的基因在多种植物上得到了克隆，例如玉米具有 5 个 *ABP1* 基因，拟南芥有 1 个 *ABP1* 基因。*ABP1* 基因编码的 ABP1 蛋白具有一个内质网滞留蛋白所特有的信号序列 KDEL，说明 ABP1 是在内质网上合成并保留在内质网膜内腔。这与其他内质网中富含 ABP1 的实验结果一致。

但是大量的证据表明，细胞质膜上也存在生长素结合蛋白。例如，利用 5-氨基萘乙酸（5-aminonaphthalene-1-acetic acid）和 5-叠氮氨基萘乙酸（5-azidonaphthalene-1-acetic acid）蛋白质结合物可以诱导豌豆上胚轴切段的伸长生长，尽管这两种生长素类似物的蛋白质结合物不能透过细胞质膜，但是在实验中仍然能表现出生长素的生物活性，这说明生长素的作用位点存在于细胞质膜上；免疫组织化学定位实验表明，玉米胚芽鞘原生质体内大约有 2%的内质网 ABP1 蛋白被分泌到细胞质膜表面。这些被转运到质膜表面上的 ABP1 足以介导生长素及其类似物在细胞质膜上的作用。

ABP1 作为生长素受体，与生长素诱导的生理效应是密切相关的。例如生长素处理烟草叶肉细胞原生质体可以在 1～2 分钟内导致质膜的超极化（hyperpolarization），如果事先用抗 ABP1 抗体和原生质体一起温育，结果会抑制生长素诱导的质膜超极化，这说明质膜上的 ABP1 参与了生长素诱导质膜超极化的生理过程。

### 二、生长素信号传递途径

我们以生长素在细胞分裂中的作用来考察生长素的信号传递途径。已知生长素和细胞分裂素都是完成细胞周期所必需的（参见本章第二节）。如果培养的烟草细胞缺乏生长素供应，其细胞分裂会被阻抑在 $G_1$ 或 $G_2$ 期，而停止分裂；加入生长素后，细胞分裂就会得到恢复。生长素刺激 CDC2（cell division cycle 2），一种 CDK（cyclin-dependent protein kinase，即周期素依赖蛋白激酶）的合成，CDC2

和其调节亚基 cyclin 共同作用，调节细胞周期从 $G_1$ 到 S 期以及从 $G_2$ 到 M 期的转变。

在动物细胞分裂过程中，分裂素原激活的蛋白激酶级联反应链是诱导细胞合成 CDK，促进分裂的信号传递途径。目前有一些实验证明植物中存在 MAPK (mitogen-activated protein kinase，分裂素原激活蛋白激酶)及 MAPKK(mitogen-activated protein kinase kinase)，例如拟南芥中发现有两种 MAPK 基因；在烟草培养细胞中也发现有类似 MAPK 和 MAPKK 的蛋白激酶，并且在细胞分裂过程中这两种激酶的活性受生长素的诱导和促进。这些发现证明在刺激 CDK 合成、调节植物细胞分裂的过程中，生长素的信号传递可能与 MAP 激酶信号传递系统有关系。

细胞分裂调控过程中的另外一个生长素信号传递途径可能如图 13-1 所示。在这个途径中起重要作用的一个酶是磷脂酶 A2(phospholipase A2，PLA2)。在动物细胞中，PLA2 参与两条脂类的代谢途径，类花生酸途径和茉莉酸途径，前者合成前列腺素(prostaglandin)，活化腺苷单磷酸环化酶，促进第二信使 cAMP 的合成，诱导细胞分裂从 $G_1$ 期进入 S 期；在茉莉酸途径中，PAL2 分解磷脂酰胆碱形成溶血磷脂酰胆碱(lysophosphatidylcholine)，活化质膜上的蛋白激酶，进而活化其他下游蛋白，例如溶血磷脂酰胆碱可以活化燕麦质膜囊泡中的 $H^+$-ATPase。

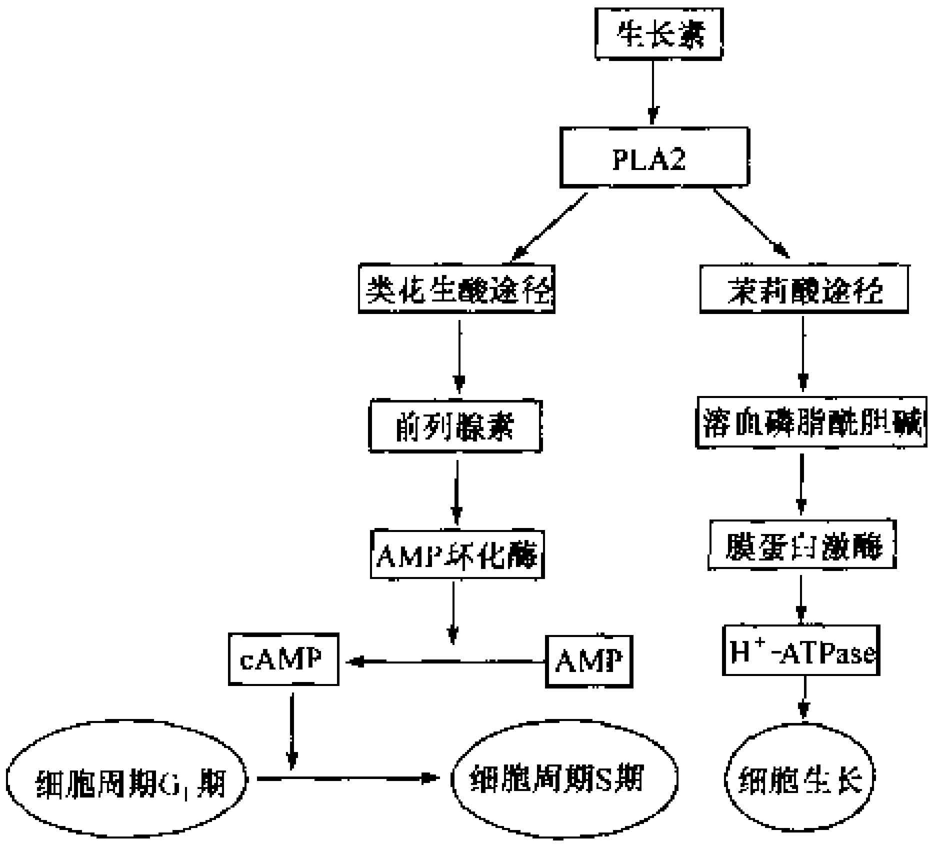



图 13-1　细胞分裂调控过程中一种可能的生长素信号传递途径

生长素处理植物细胞可以在几分钟内将 PAL2 的活性提高 70%，而且用各种生长素类物质处理都有类似结果，并且对 PAL2 活性的促进幅度与该生长素类物质的生长促进活性成正比。和在动物细胞内的作用一样，生长素刺激合成的 PAL2 参与细胞分裂的调控。有实验证明，在烟草细胞分裂周期的 S 期和 $G_1$ 期有一个短暂的 cAMP 水平高峰，而且用一种能抑制动物前列腺素合成的药物"消炎痛"处理能抑制 cAMP 高峰的形成，并阻碍细胞分裂。另外，在烟草和拟南芥中，已经发现和酵母 AMP 环化酶基因相似的基因存在；这些实验事实证明植物细胞内可能存在着这样一条生长素的信号传递途径：生长素增加 PAL2 活性，PAL2 参与植物体内的类花生酸途径，合成前列腺素，进而刺激前列腺素依赖的腺苷单磷酸环化酶活性增加，形成 cAMP 高峰，诱导植物细胞的分裂。当然，这条途径的最后确认还需要很多工作。

生长素信号传递途径的研究还表明，$IP_3$、$Ca^{2+}$ 以及胞质 pH 等因子都与生长素的信号传导有关系。

## 三、生长素早期反应基因和次级反应基因

在 20 世纪 60 年代和 70 年代早期的研究中，发现生长素刺激细胞质子分泌以及促进细胞生长的迟滞期只有 10～15 分钟，当时人们猜测在这么短的时间内不可能完成基因转录和蛋白质合成，所以生长素对生长的刺激是直接与质膜作用的结果，没有基因表达和蛋白质合成的参与。

随着分子生物学研究技术的进步，人们已经可以有效地检测细胞内 mRNA 的快速和细微的变化，发现生长素可以在 2～5 分钟内诱导细胞内特异 mRNA 转录及相应蛋白质的合成，所以即使所谓生长素的快速生长诱导反应，也可能有特异基因表达的参与。

## （一）生长素诱导基因

生长素和受体结合后，经过一系列的信号传递途径，最终活化一些转录因子（transcription factor），这些转录因子进入核内后可以控制特定基因的表达。生长素诱导基因根据转录因子的不同可以分为两类：早期基因（early gene），或称初始反应基因（primary response gene）和晚期基因（late gene），或称次级反应基因（secondary response gene）。

早期基因是受一些细胞内既存转录因子促进的基因，即生长素诱导早期基因的表达所需的所有蛋白组分在激素处理时在细胞内都存在，所以，早期基因的表达不能被蛋白质合成抑制剂如放线菌酮所抑制。而且生长素诱导早期基因表达所需的时间也非常短，最快可在几分钟内完成。早期基因的功能有三种：①编码合成晚期基因的转录因子，晚期基因参与生长素诱导的长期效应，如维管分化等，和早期基因表达不同，晚期基因的表达因为需要新蛋白质的合成，所以可以被蛋白质合成抑制剂所抑制；②合成细胞间通讯信号分子；③参与逆境适应反应。

生长素诱导的早期基因分为五大类，*Aux/IAA* 基因家族、*SAUR* 基因家族、*GH*3 基因家族、类 GST 基因族和 ACC 合成酶基因家族。

## （二）生长素诱导早期基因表达的机制

上述早期基因被诱导表达，必须具有能被生长素活化的启动子，也就是说，这些基因启动子上具有一些能与生长素活化的转录因子直接结合或间接结合的区域，称为生长素响应元件（auxin-responsive element，AuxRE）。下面我们以 *GH3* 早期基因家族为例，来讨论一下生长素诱导早期基因表达的机制。

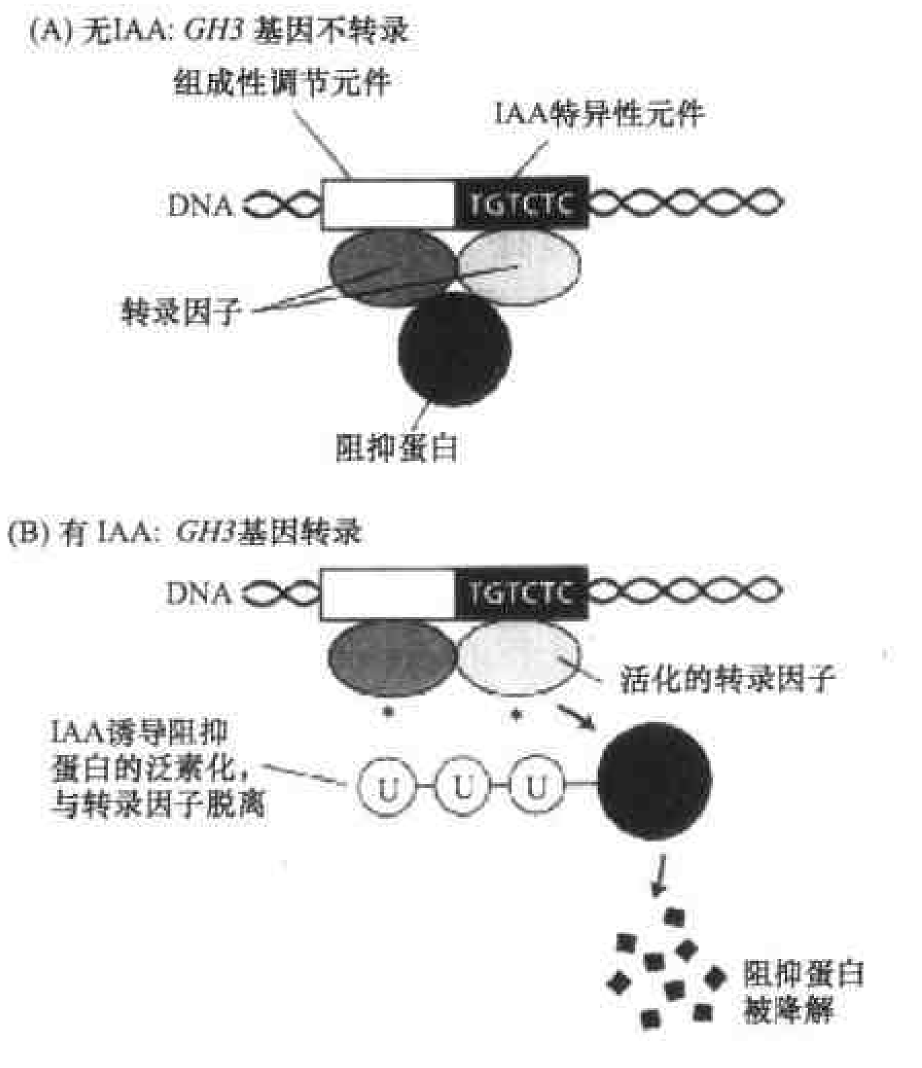



图 13-2 生长素诱导早期基因 *GH*3 转录活性的作用模型（Taiz & Zeiger 1998）

为了研究 *GH*3 基因启动子上的生长素响应元件的存在和作用性质，研究者将这些启动子与一些报告基因（如萤光素酶基因、细菌葡萄糖苷酶基因或绿色荧光蛋白基因）整合在一起，利用删除分析实验鉴定启动子上的 AuxRE。实验发现，*GH3* 基因的 AuxRE 常常几个组合在一起构成生长素响应域（auxin response domain，AuxRD），例如大豆 *GH3* 基因就含有三个独立作用的 AuxRD。AuxRD 的特征是含有 TGTCTC 保守序列。实验中还发现，AuxRD 是启动子响应生长素诱导的必需条件，但不是充分条件，必须在其上游一个可变的组成型元件（variable constitutive element）的协助下才能响应生长素的诱导，该元件的表达不受生长素的诱导，是独立的组成型表达。因此，每个完整的生长素响应域应该由两个 AuxRE 和一个相邻的可变组成型元件组成（图 13-2）。

图 13-2 是假设的生长素诱导 *GH*3 早期基因表达机制的模式图。*GH*3 基因启动子上的转录因子被抑制蛋白所抑制，生长素诱导阻抑蛋白的泛素化（ubiquitination），促进阻抑蛋白的降解，释放转录因子的活性，启动 *GH*3 基因的表达。该机制的设想基于以下两个实验事实。其一，前面已经提到过，生长素诱导的早期基因表达不受蛋白质合成抑制

剂放线菌酮的抑制，实际上，放线菌酮对早期基因的表达还有显著的促进作用。研究发现，放线菌酮的这种促进作用起因于它对转录的促进和 mRNA 的稳定作用。一般认为，蛋白合成抑制剂促进型的基因是受短寿命抑制子蛋白（short-lived repressor protein）抑制的基因，所以生长素诱导基因可能是受短寿命抑制子负调控的基因；其二，拟南芥的生长素不敏感型突变体中的 *AXR1* 基因编码的是一种核蛋白泛素化反应的活化蛋白，所以生长素可能促进抑制子蛋白的泛素化，使其降解，从而解除转录因子的抑制。

# 第二节　赤霉素作用机理

## 一、赤霉素诱导 α-淀粉酶的分子机制

在植物激素作用机理的研究中，赤霉素诱导大麦种子糊粉层 α-淀粉酶（α-amylase）合成的研究是一个典范。关于赤霉素诱导 α-淀粉酶合成的分子生物学机制的研究，不仅有助于对赤霉素其他生理功能的分子机制的理解，对其他植物激素分子如脱落酸等作用机理的研究，具有很大的启发意义。

谷类种子由三部分组成：胚、胚乳和种皮。其中胚具有一个被称作“盾片”的特征结构，是胚的分泌和吸收组织；胚乳由两类组织组成：中央的淀粉胚乳和周围的糊粉层，前者是由富含淀粉粒的薄壁细胞组成；后者由富含蛋白体（protein body）和油脂体（oleosome）的厚壁细胞组成（图 13-3B）。

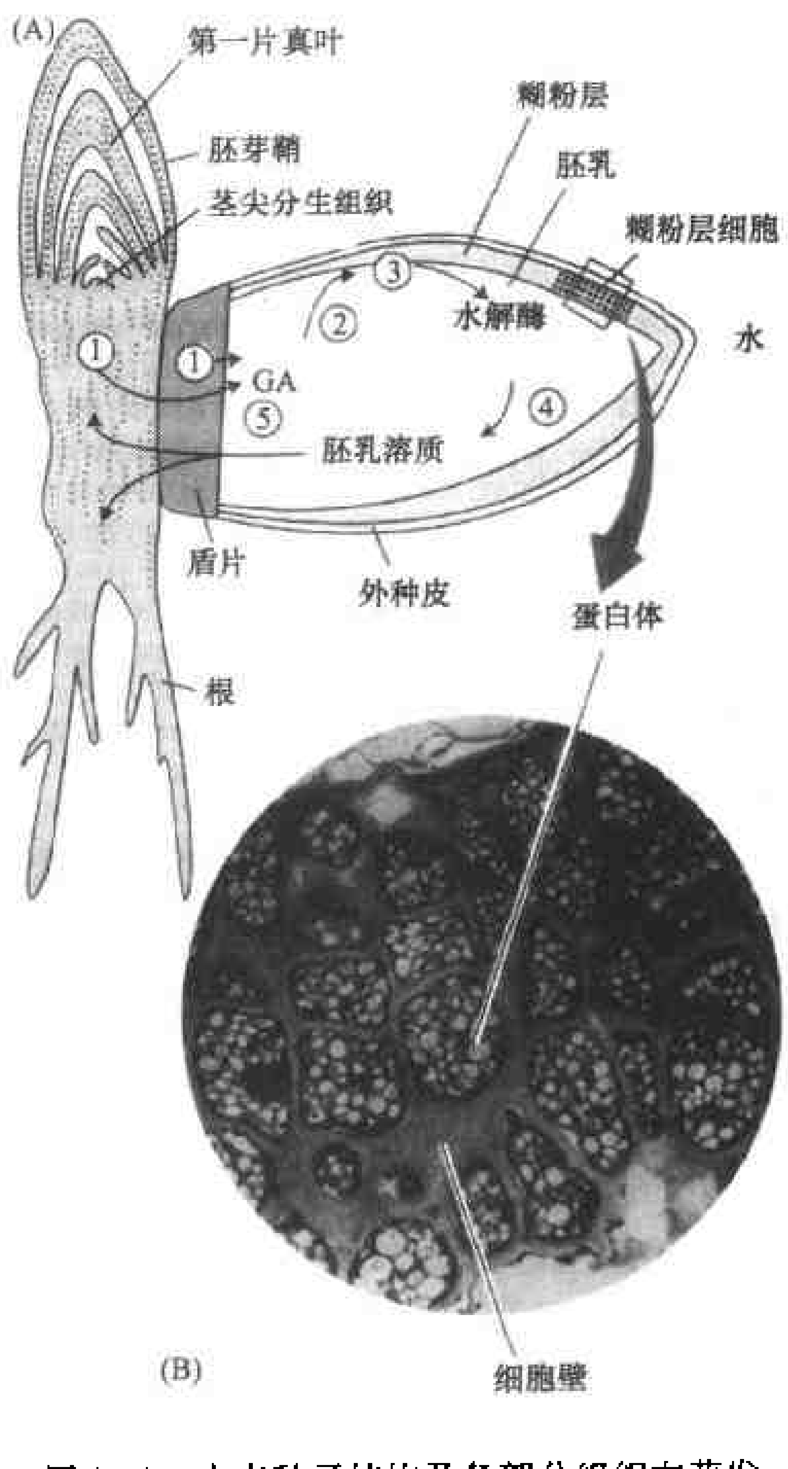



图 13-3　大麦种子结构及各部分组织在萌发过程中的作用（Hopkins　1995）

在谷类种子发芽过程中，胚乳中的储藏淀粉和蛋白质由淀粉酶和蛋白酶水解成小分子供应幼苗生长，其中水解淀粉的酶类主要有 α-淀粉酶和 β-淀粉酶，α-淀粉酶将淀粉水解为 α-1，4-葡萄糖苷键连接的寡聚糖，β-淀粉酶将寡聚糖水解为麦芽糖，麦芽糖在麦芽糖酶的作用分解为葡萄糖。α-淀粉酶是在谷类种子的盾片和糊粉层中合成并分泌到胚乳中去的（图 13-3A）。单子叶禾本科植物（如大麦、小麦、水稻和燕麦等）种子的糊粉层是一种高度特化的分泌组织，它的重要功能就是在种子萌发过程中合成并分泌水解酶类，完成这个生理功能后，这部分细胞就开始衰老和死亡。

20 世纪 60 年代的实验证明糊粉层分泌 α-淀粉酶依赖胚的存在。在经典的“半种子实验”（half-seed test）中，发现除去胚的种子不能分泌 α-淀粉酶，但是，如果把胚和去胚的种子放在一起培养，就有 α-淀粉酶的分泌和淀粉的水解。这说明胚分泌的一种可以扩散的因子诱导了糊粉层合成并分泌 α-淀粉酶。后来发现在“半种子实验”中，赤霉素 $GA_3$ 可以取代胚来诱导糊粉层 α-淀粉酶的合成。进一步的研究确认了在萌发过程中，胚合成赤霉素（主要是 $GA_1$）分泌到糊粉层诱导 α-淀粉酶及其他水解酶类的合成（图 13-3A）。

## (一)糊粉层细胞质膜上的GA受体

许多实验证实,赤霉素诱导糊粉层细胞α-淀粉酶合成过程中,赤霉素受体存在于质膜上。例如利用赤霉素和琼脂糖珠结合生成不能穿透细胞质膜的赤霉素模拟物,与糊粉层细胞原生质体一起温育,也能诱导α-淀粉酶的合成和分泌,说明赤霉素的最初的作用部位是原生质膜,即赤霉素的受体存在于质膜上;一个更有说服力的实验是,将赤霉素 $GA_3$ 用显微注射的方法导入糊粉层原生质体细胞内不能诱导α-淀粉酶的合成,但是将这些细胞培养在含 $GA_3$ 的培养液中却可以诱导α-淀粉酶的合成,这说明赤霉素作为激素信号的感受部位存在于细胞质膜上。

## (二)赤霉素信号传递的两条途径

赤霉素诱导糊粉层水解酶的合成和分泌这两个过程中,可能分别有不同的信号传递途径参与。其中参与赤霉素诱导初始反应基因 *GAMYB* 表达的信号传递途径是cGMP依赖途径;而参与赤霉素诱导α-淀粉酶分泌的信号传递是 $Ca^{2+}$-钙调素依赖途径(图13-4)。

**1. $Ca^{2+}$-钙调素依赖途径**

赤霉素和受体结合后,首先激活了质膜上的G蛋白。实验表明,用能够促进G蛋白上GDP/GTP交换的Mas7短肽处理糊粉层细胞,能促进α-淀粉酶的合成和分泌,但是用G蛋白上GDP/GTP交换抑制剂GDP-β-S处理,则抑制 $GA_3$ 诱导的α-淀粉酶合成和分泌。该实验说明赤霉素和受体结合后的信号传递链有G蛋白的参与(有关G蛋白的内容参见第十八章)。

钙离子是动植物细胞中重要的第二信使(参见第十八章)。实验表明,在赤霉素诱导α-淀粉酶合成和分泌的信号传递过程中,钙离子及钙调素都扮演着重要的角色。赤霉素处理可以在1~4小时内提高糊粉层细胞质内的 $Ca^{2+}$ 水平,同时在2小时内将细胞内的钙调素水平提高2倍,这些效应都发生在α-淀粉酶合成和分泌之前。但是如果在糊粉层细胞温育液中除去 $Ca^{2+}$,不仅会抑制胞内 $Ca^{2+}$ 水平的升高,而且会抑制α-淀粉酶的分泌。用显微注射的方法将钙离子荧光染色剂注入细胞,再用激光共聚焦显微镜观察,发现赤霉素诱导的钙离子水平的增加主要集中在质膜附近,上述实验结果不仅证明钙离子及钙调素参与了赤霉素的信号传递链,而且可能与赤霉素诱导合成的α-淀粉酶的分泌有关。

**2. cGMP途径**

cGMP和cAMP一样,在动植物细胞内起着第二信使的作用,例如cGMP参与光敏素诱导基因表达的信号传递。赤霉素处理糊粉层细胞约1小时后,细胞内cGMP水平有一个瞬时的升高过程,鸟苷酸环化酶(guanylyl cyclase,催化GTP形成cGMP的酶)抑制剂会阻抑赤霉素诱导的α-淀粉酶合成和分泌;但是外源添加cGMP可以克服这种抑制。所以,cGMP参与了赤霉素诱导α-淀粉酶合成和分泌的信号传递过程。

赤霉素诱导α-淀粉酶的合成和分泌的过程中,可能分别有不同的信号传递途径参与。其中参与赤霉素诱导初始反应基因 *GAMYB* 表达的信号传递途径是cGMP依赖途径;而参与赤霉素诱导α-淀粉酶分泌的信号传递是 $Ca^{2+}$-钙调素依赖途径。

## (三)α-淀粉酶基因表达的调节机制

赤霉素诱导的α-淀粉酶的合成是从转录水平开始的,即通过诱导α-淀粉酶基因的转录促进α-淀粉酶mRNA的合成,从而增加细胞中α-淀粉酶活性的。利用同位素标记氨基酸饲喂糊粉层细胞进行的实验证明,赤霉素诱导的α-淀粉酶合成是从头合成(*de novo* synthesis)(即从氨基酸开始的合成),而不是激活既存α-淀粉酶的活性;转录抑制剂或翻译抑制剂可以是阻碍 $GA_3$ 诱导的α-淀粉酶合成,也说明赤霉素诱导α-淀粉酶合成是从转录水平进行的。利用α-淀粉酶基因的[$^{32}P$] cDNA探针和

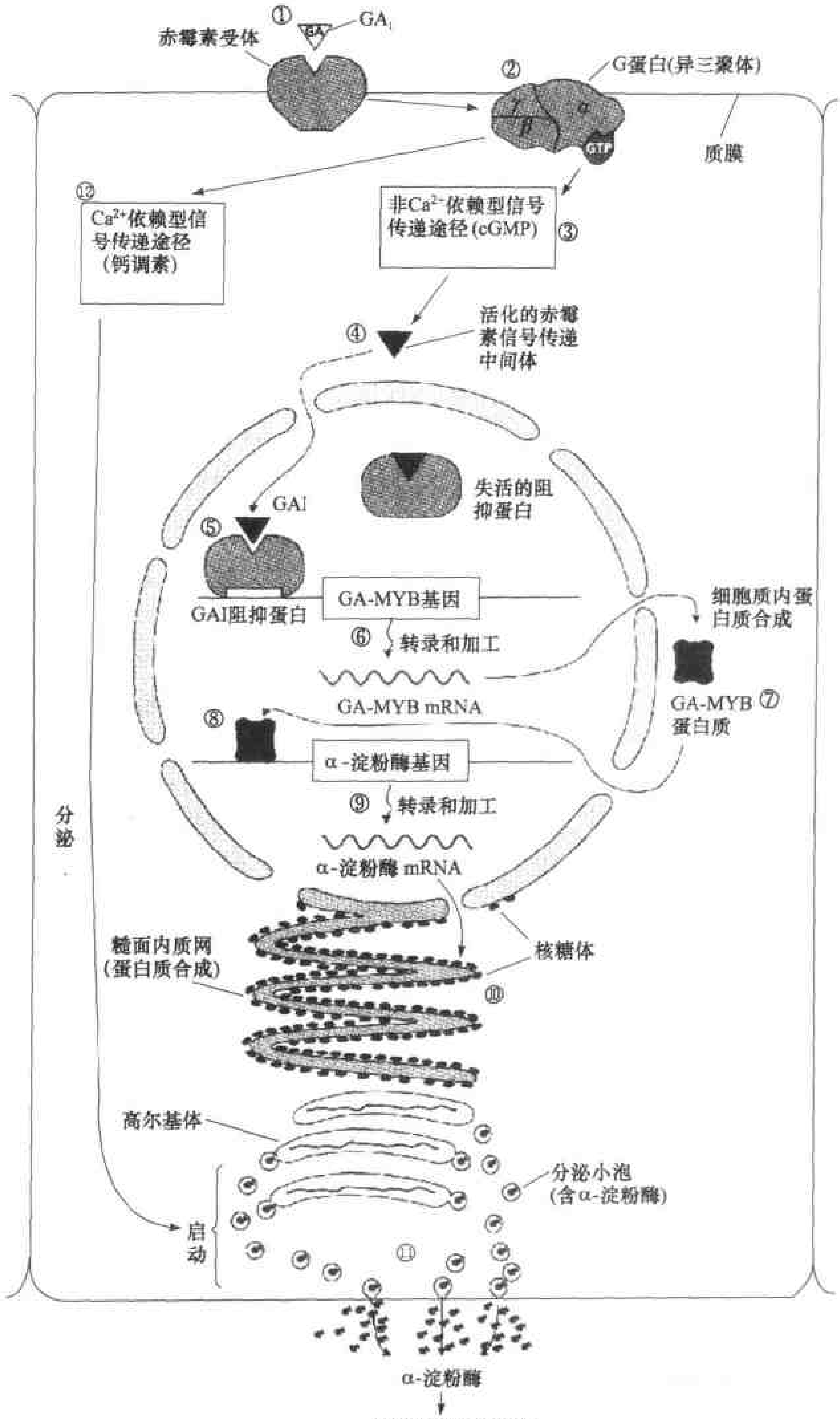



图 13-4 赤霉素诱导糊粉层水解酶的合成和分泌的过程(Taiz & Zeiger 1998)

图中的数字表示信号传递途径中的反应顺序。

Northern 杂交法证实赤霉素处理可以大幅度提高 α-淀粉酶 mRNA 水平。

**1. 赤霉素启动子反应复合体**

在 α-淀粉酶基因及其诱导的研究中，人们为了检测方便，将 α-淀粉酶基因的启动子分离出来与一些报告基因，如 β-葡萄糖苷酸酶(β-glucuronidase，GUS)基因整合，构建成含 α-淀粉酶基因启动子的嵌合基因。该基因表达形成的 GUS 可以催化底物 X-gluc 形成蓝色沉淀物，可用来进行基因表达的鉴定。将这种人工构建的基因导入糊粉层细胞后，其表达受 $GA_3$ 的调节。

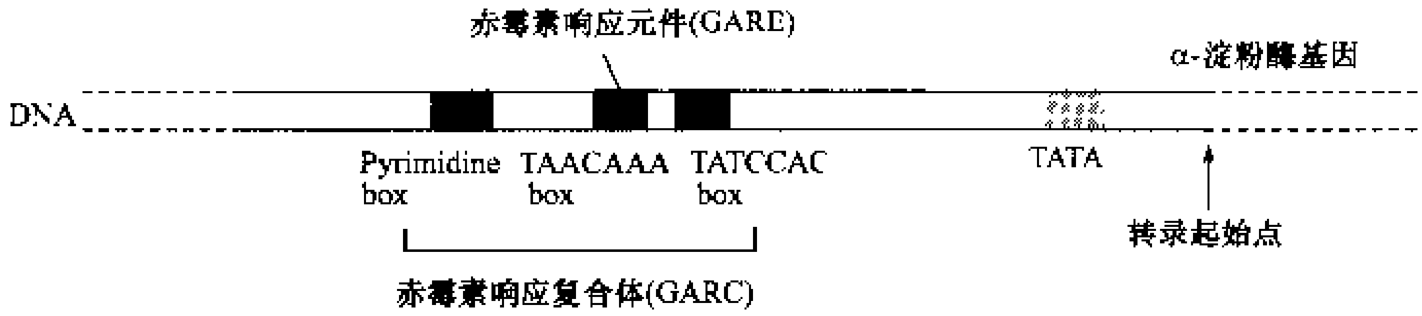



图 13-5　α-淀粉酶基因启动子的结构框图(Taiz & Zeiger　1998)

利用上述转基因糊粉层细胞进行 α-淀粉酶基因启动子删除分析实验发现，与 GA 诱导活性紧密相关的碱基序列位于基因转录起始点上游 200～300 碱基对之间(图 13-5)。这些与 GA 诱导活性密切相关的序列被称为赤霉素响应元件(gibberellin response element，GARE)。α-淀粉酶基因启动子中包含三种 GARE：TAACAAA 盒、TATCCAC 盒和 C/TCTTTTC/T 盒。这三个短序列盒在一起构成赤霉素响应复合体(gibberellin response complex，GARC)，它们在启动子内的位置、顺序和定向在各种谷类植物中是高度保守的。GARC 是实现赤霉素诱导所必需的启动子构造，如果这三个元件任何一个发生了突变，$GA_3$ 诱导基因表达的能力都会大大降低，所以完全的赤霉素感受能力需要这三个 GARE 的协同作用。

**2. 赤霉素诱导转录因子的合成**

赤霉素诱导 α-淀粉酶基因的表达过程中，有一些特异的转录因子参与。所谓转录因子，就是与基因转录的调控部位结合的蛋白质，或称 DNA 结合蛋白，起促进或抑制基因转录的作用。赤霉素诱导合成能与 α-淀粉酶基因调节区特异结合的 DNA 结合蛋白，启动 α-淀粉酶基因的转录，从而促进 α-淀粉酶的合成。

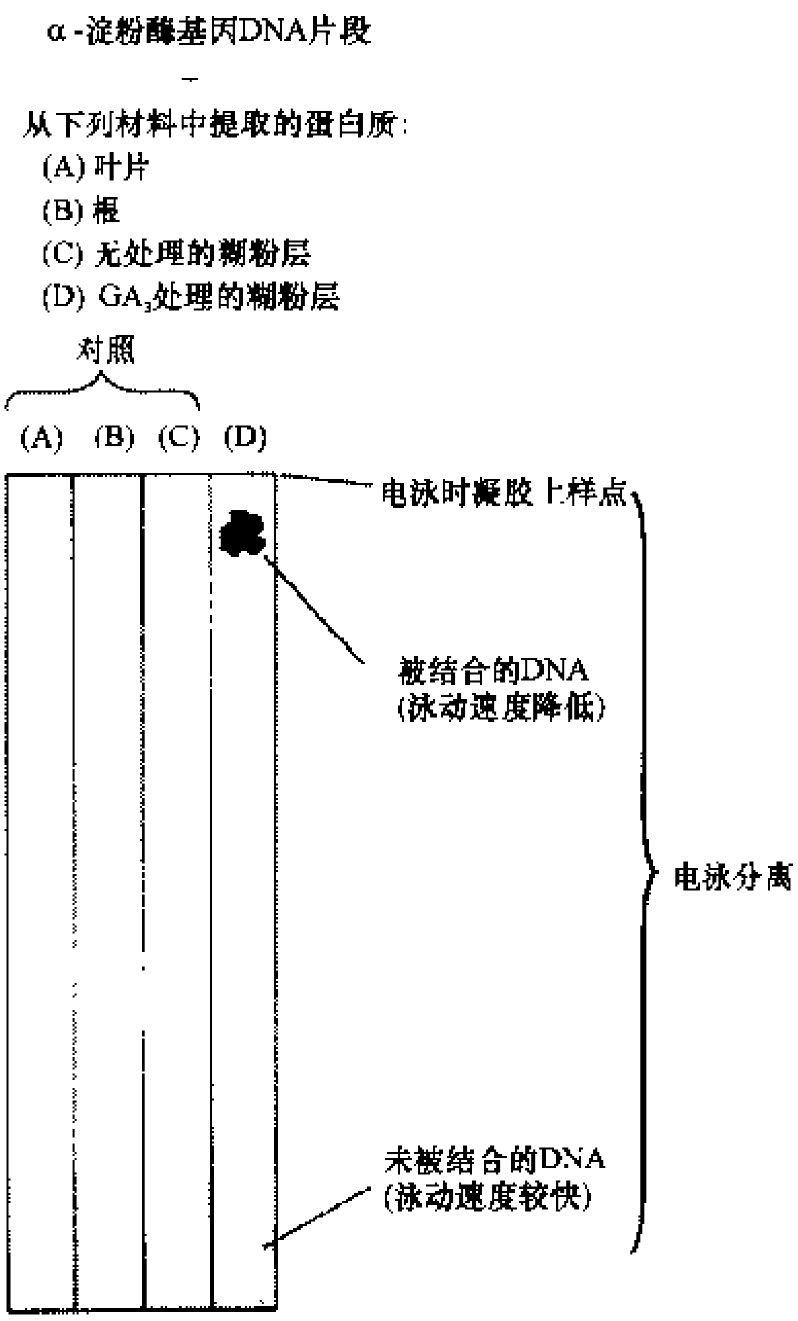



图 13-6　利用"泳动差异分析"方法鉴定赤霉素诱导 α-淀粉酶基因表达过程中 DNA 结合蛋白的示意图(Taiz & Zeiger　1998)

赤霉素诱导合成的 DNA 结合蛋白是一种被称作 MYB 的蛋白，是一种与生长发育具有密切关系的转录因子。MYB 的 mRNA 能被 $GA_3$ 诱导产生，而且这种诱导发生在 α-淀粉酶 mRNA 被诱导产生之前，MYB mRNA 的合成不被蛋白质合成抑制剂放线菌酮所抑制，所以 MYB 基因是赤霉素的初级反应基因(图 13-6)。

赤霉素诱导的 MYB 蛋白(GA-MYB)能与赤霉素响应元件上的 TAACAAA 序列结合，并且诱导 α-淀粉酶 mRNA 的合成。双基因转化的糊粉层细胞可以证实这个结论。所谓双基因转化，就是：①将 *GA-MYB* 基因

与组成型表达启动子整合，使其在无 GA 诱导的条件下仍然能表达；②将 α-淀粉酶基因的启动子与 *GUS* 基因整合。最后把两种基因同时导入糊粉层细胞，发现在无赤霉素诱导的条件下，细胞内可以合成 GUS，即使添加 GA 也不能促进 GUS 活性的进一步提高。该实验证明 GA-MYB 可以单独诱导 α-淀粉酶基因的表达。和作为赤霉素初级反应基因 *GA-MYB* 基因相比，α-淀粉酶基因表达较晚，而且受放线菌酮的抑制，应属于赤霉素的次级反应基因，或称晚期基因。

由上述内容可以大致总结出赤霉素诱导糊粉层细胞 α 淀粉酶合成的分子机理(图 13-4)。赤霉素和细胞质膜上的受体结合，通过由膜上 G 蛋白介导的信号传递系统，活化了细胞既存的活化因子，该活化因子进入核内和 GA-MYB 基因的抑制子结合，使 *GA-MYB* 基因脱阻抑，合成 GA-MYB 蛋白。合成的 MYB 蛋白和 α-淀粉酶基因启动子上的赤霉素响应元件结合，诱导 α-淀粉酶 mRNA 的合成，最后通过翻译加工合成 α-淀粉酶，并分泌到胚乳中发挥作用。

## 二、赤霉素促进细胞伸长和分裂的机制

赤霉素可以在极低的浓度下发挥生理调节效应，例如 0.1 ng/L 的 $GA_3$ 就足以刺激莴苣或水稻幼苗的伸长生长。这意味着植物细胞内存在着有效的赤霉素信号传递和放大系统。

### （一）赤霉素促进细胞分裂和细胞伸长

赤霉素促进细胞分裂和细胞伸长的生理现象表现最典型的是在矮化植物和莲座植物上，其次，赤霉素刺激双子叶植物上胚轴伸长生长和禾本科植物的居间分生组织分裂和生长的生理效应也非常典型。

赤霉素不仅促进细胞的伸长生长，而且也促进细胞的分裂。例如，赤霉素在促进豌豆茎节伸长的同时，和对照相比，也增加了茎节细胞的数目；赤霉素可以显著提高莲座植物亚顶端分生组织细胞有丝分裂的活性。又如，赤霉素对深水水稻(deepwater rice)茎节生长的促进作用非常显著，主要是因为赤霉素促进了深水水稻茎节居间分生组织的细胞分裂活性和伸长速度。

赤霉素是通过增加细胞壁的伸展性来促进细胞伸长生长的，但是赤霉素促进细胞伸长生长与生长素有许多不同，首先没有细胞壁酸化现象；其次赤霉素对细胞伸长生长促进的迟滞期较长，如对豌豆茎要 2～3 小时(生长素需 10～15 分钟)，这说明赤霉素对细胞壁伸展性的影响方式与生长素不同。

有许多关于赤霉素增加细胞壁伸展性机制的假说，但都不是十分确切。最近的研究认为，赤霉素对细胞壁伸展性的增加，与它能促进细胞壁中的木葡聚糖内糖基转移酶(xyloglucan endotransglycosylase，XET)活性密切相关。XET 在各种植物组织中广泛存在，它从分子链的内部水解木葡聚糖，并将水解的木葡聚糖片断转移到另外一个木葡聚糖的末端。所以 XET 具有重组细胞壁基质分子的能力，可以增加细胞壁的伸展性。生长素与 XET 活性之间没有明显关系，所以赤霉素诱导 XET 活性的增加是赤霉素的特异作用。

XET 增加细胞壁的伸展性可能是它增加了细胞壁对扩张蛋白的透性。已知扩张蛋白是一种细胞壁蛋白，在酸性条件下可以弱化细胞壁多糖之间的氢键。根据这个观点，赤霉素和生长素在促进细胞伸长生长过程中是协同作用的关系，即赤霉素诱导 XET 酶的活性增加，改善了细胞壁对扩张蛋白的透性，使大量的扩张蛋白进入细胞壁；生长素促进质子的分泌，酸化细胞壁环境，活化扩张蛋白，使细胞壁的伸展性得到促进。

### （二）调节居间分生组织细胞的细胞周期

赤霉素对细胞分裂的调节在深水水稻的居间分生组织中研究得比较透彻。淹水诱导水稻茎节乙烯的大量合成和脱落酸水平的下降，由于 ABA 是赤霉素的拮抗剂，所以 ABA 水平的下降使茎节对赤

霉素的反应更敏感。赤霉素合成抑制剂会抑制淹水诱导的水稻茎节生长,外源 GA 处理会在非淹水条件下促进水稻茎节生长,这些实验结果说明赤霉素是调节淹水水稻茎节生长的主要激素。

通过分析 GA 处理对深水水稻居间分生组织内细胞周期的影响,得出如下结论:赤霉素首先诱导细胞的伸长生长,然后诱导细胞进行分裂。也就是说,赤霉素通过细胞体积的扩大,诱导 $G_2$ 期的分生细胞进入 M 期,赤霉素诱导细胞分裂是赤霉素促进细胞伸长生长的间接效应。

我们知道细胞周期各阶段的过渡是受依赖于细胞周期蛋白(亦称周期素)的蛋白激酶(cyclin dependent protein kinase,CDK)调节的。赤霉素促进水稻居间分生组织细胞从 $G_2$ 期向 M 期的过渡是因为它促进了其中的 *CDC2* 基因的表达,而且还促进了有丝分裂特异的周期素(cyclin)基因的表达。研究还发现,赤霉素处理可以促进 CDC2 活化激酶(CDC2 activating kinase,CAK)的表达,CAK 通过磷酸化反应激活 CDC2。看来赤霉素诱导水稻茎节居间分生组织细胞的分裂和 CDK 系统是具有密切关系。

# 第三节　细胞分裂素

## 一、细胞分裂素的受体

已知的细胞分裂素受体可以分为两大类型,一类是细胞质受体(cytosolic receptor),另一类是质膜受体。下面分别介绍关于这两类受体的经典研究。

莫斯科俄国科学院的 Kulaeva 从大麦幼苗胚芽鞘内提纯出一种 67kDa 的蛋白质,与玉米素具有高度的亲和性和特异性,所以称为玉米素结合蛋白(zeatin-binding protein,ZBP)。ZBP-玉米素结合物可以促进 RNA 聚合酶 I(RNA polymerase I)和 RNA 聚合酶 II 活性,同时提高了核糖体 RNA 和蛋白质编码基因的转录。但是 ZBP 的这种对转录活性的提高对各种基因具有普遍性,很难解释细胞分裂素对特异基因表达的促进。所以细胞分裂素诱导特异基因的表达可能还存在着其他途径。

关于细胞分裂素受体的另一研究是日本大阪大学的 Tatsuo Kakimoto 进行的。他利用一种称作"激活标签"(activation tagging)的基因工程技术筛选在无细胞分裂素培养基上也能变绿、分裂增殖和产生不定芽的拟南芥愈伤组织突变体。在筛选了 5 万个经过"激活标记"的愈伤组织样品后,获得了 6 种可以满足上述条件的突变体,其中 4 种被 T-DNA 标记的基因是相同的基因,被命名为 *CKI1* (cytokinin independent 1)。

*CKI1* 基因编码一种与 *ETR1* 基因编码的乙烯受体(参见本章第五节)非常类似的蛋白质,其蛋白氨基酸序列完全符合目前发现的受体二元调节系统模型(参见第十八章),其中含有一个组氨酸激酶结构域。由于 ETR1 蛋白已经确定是乙烯受体,CKI1 蛋白与 ETR1 蛋白的这种类似性,说明 CKI1 蛋白极有可能是细胞分裂素的受体。

研究还表明,与 ZBP 不同的是,CKI1 分布在质膜上,所以 CKI1 不可能像 ZBP 一样直接影响基因的转录过程,而是通过激发一系列的信号传递系统来诱导其生理反应的。

## 二、细胞分裂素诱导基因

首先对细胞分裂素处理样品和无细胞分裂素处理样品组织 cDNA 文库的构建,通过示差杂交/扣除杂交法(differential or subtractive hybridization)可以确定细胞分裂素诱导基因的存在。例如在大豆悬浮培养细胞内,细胞分裂素处理可以在 4 个小时内使 20 种不同的 mRNA 增加 2~20 倍;其中一个称为 CIM1 的 mRNA 可以被 $10^{-8}$ mol/L 的 6-苄氨基嘌呤 (benzylaminopurine,BAP)诱导增加 20 倍,研究发现这些细胞分裂素诱导基因中,CIM1 编码一种类似花粉过敏原的蛋白质,还有另外两种 mRNA 编码核糖体蛋白。这些基因的诱导不受蛋白合成抑制剂放线菌酮的抑制,所以是细胞分裂素

的初期反应基因(早期基因)。

一个最典型的细胞分裂素诱导基因是硝酸还原酶基因。硝酸还原酶是植物氮同化代谢过程中重要的酶(参见第五章)。黄化幼苗见光后从异养状态变为自养状态时,核基因编码的硝酸还原酶和叶绿体基因编码的亚硝酸还原酶,以及其他氮同化代谢所需的酶类都会被光所诱导。细胞分裂素可以取代光照条件诱导黄化大麦叶片产生硝酸还原酶,同时伴随着硝酸还原酶 mRNA 水平的增加,因为转录抑制剂和翻译抑制剂都会阻碍细胞分裂素对硝酸还原酶的诱导,所以可以推论细胞分裂素是通过对转录过程的控制诱导硝酸还原酶合成的。

有资料表明细胞分裂素还可以在转录后水平(post-transcriptional step)对基因表达进行调控。例如用细胞分裂素处理避光条件下生长的浮萍(*Lemna gibba*),可以使 Rubisco 小亚基 mRNA 和集光蛋白系统 II 中的叶绿素结合蛋白(LHCB)mRNA 水平升高 5 倍,但是对转录活性的提高却只有 50%,所以细胞分裂素有可能是通过抑制 mRNA 降解增加细胞内 mRNA 水平的。

## 三、细胞分裂素的信号传递途径

在植物激素信号传递途径的研究中,大量应用的植物材料是激素反应缺陷的突变体,细胞分裂素信号传递途径的研究也不例外。但是比较起来,细胞分裂素信号传递途径研究进展相对较慢。

所谓激素反应缺陷突变体(或称激素不敏感突变体),是那些在足以引起野生型植株变态反应的激素浓度下仍然能够正常生长的突变体植株,有人筛选了五种这样的拟南芥细胞分裂素反应缺陷突变体,这五种突变体的变异都发生在同一个基因上,即 *CKR1* (cytokinin resistant 1)基因。*ckr1* 突变体对细胞分裂素不敏感,例如用细胞分裂素处理暗条件下培养的野生型拟南芥黄化幼苗,会抑制根和上胚轴的伸长生长(图 12-30),但是细胞分裂素处理 *ckr1* 突变体不表现上述抑制效果。有趣的是 *ckr1* 突变体同时也是乙烯不敏感突变体,能够抵抗乙烯处理对拟南芥黄化幼苗的根和上胚轴伸长生长的抑制作用。实际上,细胞分裂素能够诱导乙烯产生,而且乙烯的发生量与细胞分裂素处理剂量呈正相关。进一步的分析发现,*CKR1* 基因是乙烯反应基因 *EIN2* 基因(见本章第五节)的等位基因。这些实验结果表明细胞分裂素和乙烯共享一条信号传递途径,至少它们的信号传递途径中的某些组分是共享的。前述的细胞分裂素受体蛋白与乙烯受体蛋白类似的事实也表明两种激素的信号传递途径可能是类似的。

另外一个拟南芥突变体 *cyr1* (cytokinin response 1)的变异可能也发生在细胞分裂素信号传递链上。和上述的 *ckr1* 突变体类似,细胞分裂素对 *cyr1* 根系生长抑制活性比对野生型的抑制活性低 10 倍。但是和 *ckr1* 不同的是,*cyr1* 不是乙烯或其他激素的不敏感突变体,而且 *ckr1* 突变体除了对细胞分裂素不敏感之外,其他表型几乎与野生型相同;而 *cyr1* 突变体如果不培养在含外源细胞分裂素的基质上,就会表现严重的发育畸形。这说明 *CYR1* 基因可能编码一种细胞分裂素信号传递链上一种重要的蛋白质,影响细胞分裂素调节的多种生理功能。

和其他激素(如赤霉素、脱落酸等,参见本章相关内容)的信号传递途径的情况类似,$Ca^{2+}$ 作为第二信使,也是细胞分裂素信号传递途径的重要组分。例如在苔藓植物葫芦藓(*Funaria hygrometrica*)芽分化的研究中,发现细胞分裂素处理可以大幅度增加丝状细胞(可以分化为芽)内的 $Ca^{2+}$浓度,同时促进芽的分化;如果在无 $Ca^{2-}$ 的基质上,芽的分化会受到抑制;钙离子载体 A23187 处理可以代替细胞分裂素促进芽的分化。有研究表明,细胞分裂素可以调节质膜上的钙离子通道对钙离子的通透性,利用显微注射和激光共聚焦显微镜观察发现细胞分裂素处理可以在 10 分钟内诱导紫苜蓿根毛细胞的质膜发生超极化,并伴随着胞质钙离子浓度的快速增加。这些实验结果充分说明在细胞分裂素信号传递途径中,钙离子是非常重要的信使,它可能与细胞内的钙调素一起发挥生理调节作用。

# 第四节 脱 落 酸

脱落酸参与许多生理过程的调节，其中有类似种子成熟等长期过程，也有类似气孔关闭等短期过程。对于长期生理过程，肯定有脱落酸诱导基因的参与；而快速的生理反应可能是脱落酸诱导的质膜两侧的离子流动的结果；但是无论基因诱导还是离子流控制，都需要脱落酸的信号传递过程，即脱落酸与受体结合，诱导包括第二信使参与的信号传递和放大过程。近年来关于脱落酸作用的分子机制的研究取得显著的进展，本节将简要地介绍关于脱落酸受体、脱落酸信号传导和脱落酸诱导基因等方面的研究情况。

## 一、ABA 调节气孔运动的分子及生理机制

### （一）脱落酸的胞内和胞外受体

脱落酸调节气孔运动的机理模型如图 13-7 所示。

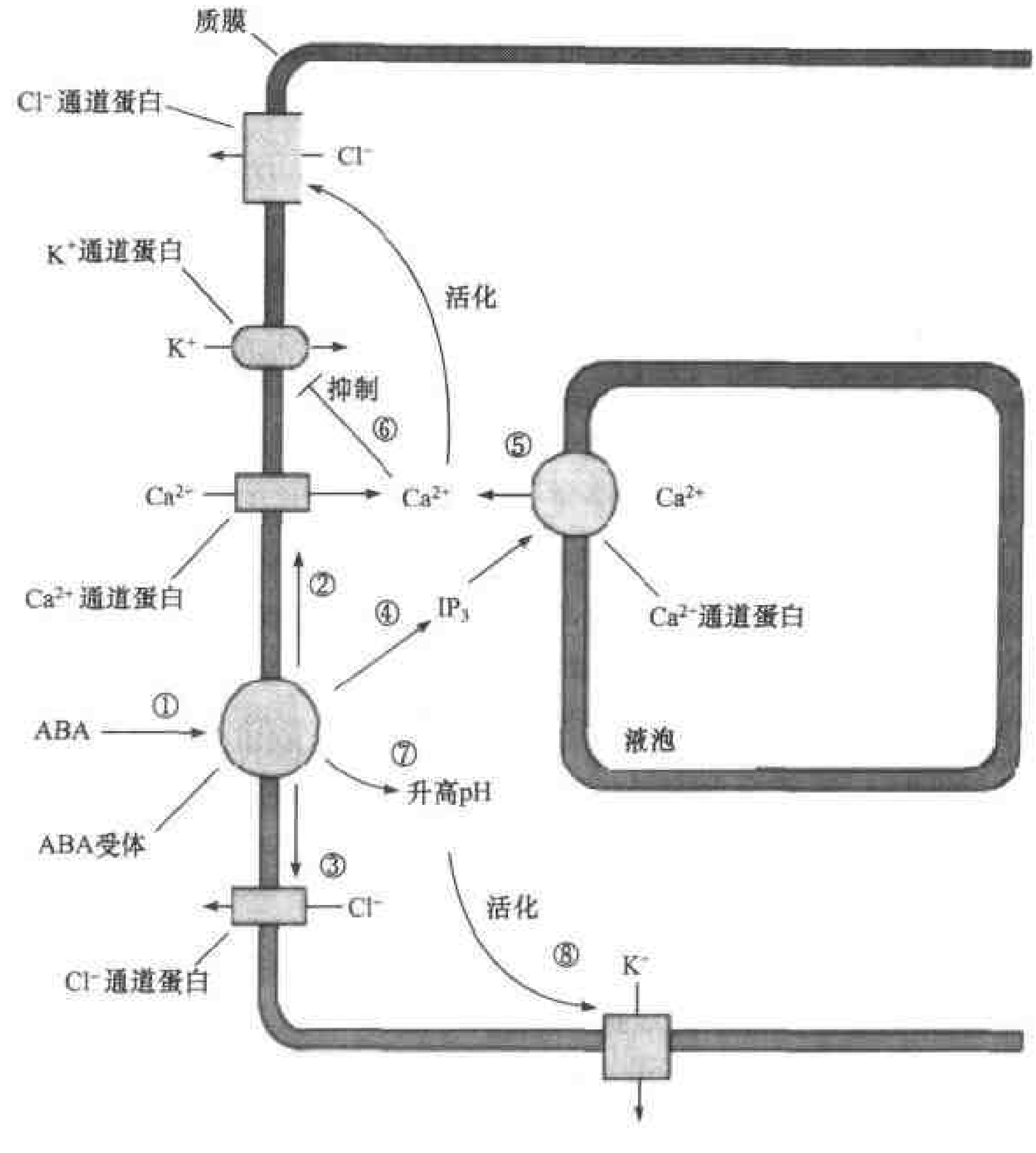



图 13-7 ABA 调节气孔运动的机理模型（Taiz & Zeiger 1998）

①ABA 和质膜上的受体结合；也有可能与存在细胞质内的受体结合。ABA 与受体的结合将激活下游的信号传递途径；②ABA 诱导膜上钙离子通道的开放，激活了 R 型 $Cl^-$ 通道的活化，诱导质膜的快速去极化反应；③质膜的快速去极化促进了 S 型 $Cl^-$ 通道的开放，进一步延长和加速质膜的去极化过程；④ABA 诱导 $IP_3$ 的生成；⑤$IP_3$ 诱导液泡上钙离子通道的开放，使液泡内钙离子释放到细胞质内；⑥胞质钙离子浓度的增加激活 $Cl^-$ 通道的开放，同时抑制内向的 $K^+$ 通道，这种阴离子的净流出使质膜的去极化得到进一步的加强和维持；⑦ABA 刺激胞内 pH 升高；⑧胞内 pH 升高活化外向 $K^+$ 通道，促进 $K^+$ 的外流。上述过程导致保卫细胞膨压下降，气孔关闭。

实验表明脱落酸同时具有胞内和胞外两类受体。例如用同位素标记的脱落酸进行的实验发现，脱落酸只与保卫细胞质膜的外表面结合，利用显微注射的方法直接将 ABA 导入紫露草(*Spiderwort commelina*)叶片的保卫细胞内，使胞内 ABA 浓度达到 50～200μmol/L，远远超过外源施用时诱导气孔关闭所需的脱落酸水平，但是发现细胞内的 ABA 对气孔关闭没有影响；在脱落酸抑制赤霉素诱导 α-淀粉酶合成的实验中，也发现直接注入细胞内的脱落酸不抑制赤霉素对 α-淀粉酶的诱导。上述实验结果表明，脱落酸的受体存在于细胞质膜表面。

但是在上述 ABA 显微注射实验中，注入的脱落酸有可能被降解，或者因为注射造成的细胞伤害抑制了生理反应的产生，导致胞内 ABA 不能发挥激素作用。针对这些问题，有人设计了一种笼化 ABA

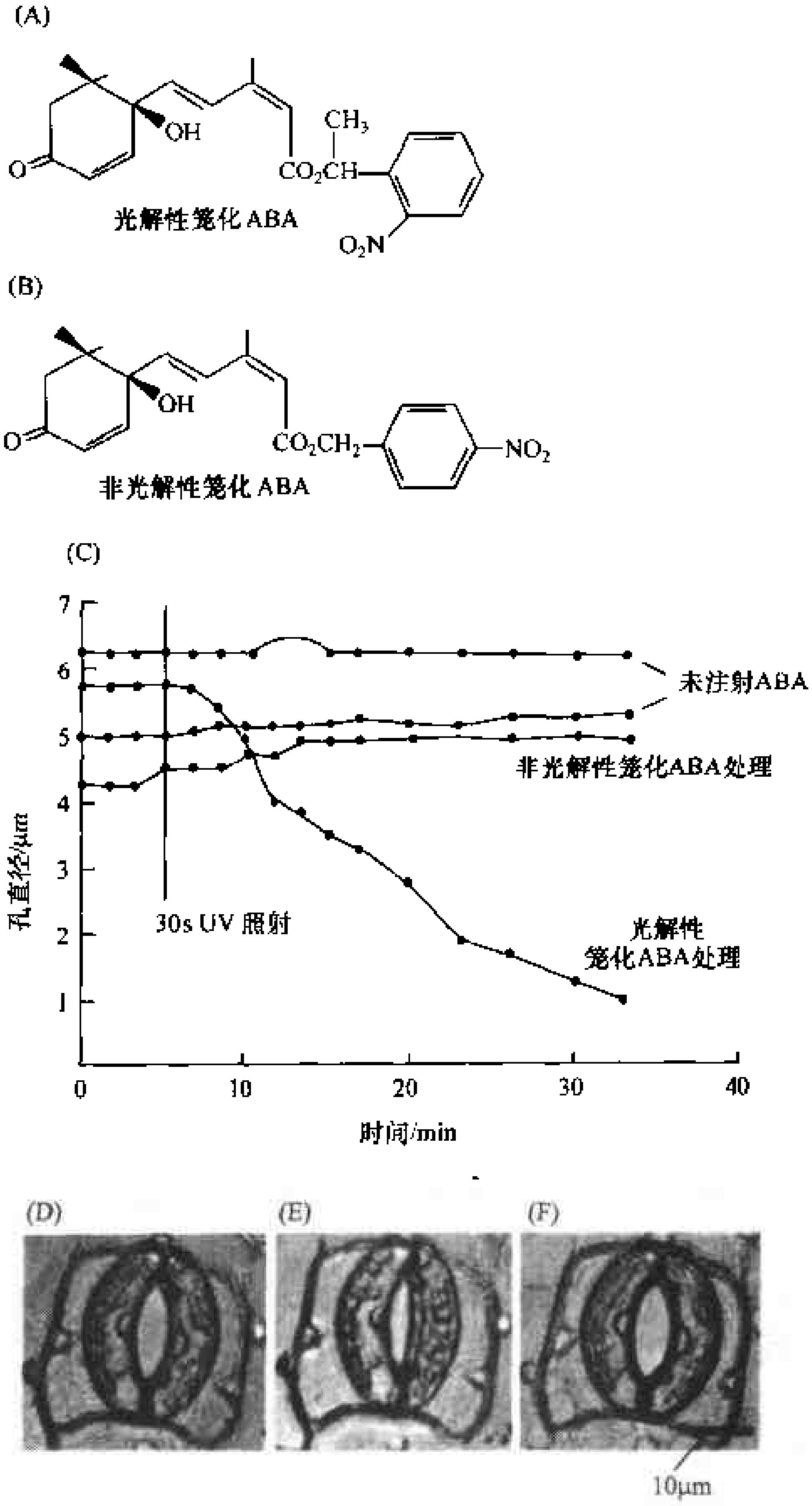



图 13-8 光解性"笼化"ABA 注射入鸭跖草叶片保卫细胞可以诱导气孔关闭(Taiz & Zeiger 1998)

(A)光解性、(B)非光解性笼化 ABA 的结构；(C)注射入笼化 ABA，恢复 30 分钟后，记录紫外照射前后各 30 分钟的气孔直径变化曲线；(D)鸭跖草叶片气孔，注入光解性笼化 ABA，紫外照射前 10 分钟；(E)紫外照射后 30 分钟；(F)10μmol/L 壳梭孢素(fusicoccin)处理 1 小时，气孔张开。壳梭孢素能够活化质膜上的 $H^+$-ATPase，刺激气孔开张。这表明气孔保卫细胞没有受到显微注射和紫外照射的损伤。

(caged ABA)(图 13-8A),包装脱落酸没有生物活性,但是可以被短暂的紫外光照诱发光解(photolysis),释放出活性脱落酸。借助这种包装脱落酸,可以人为地控制脱落酸在细胞内部的释放。作为对照,研究者又设计了非光解的包装脱落酸(图 13-8B)。

将上述两种包装脱落酸通过显微注射导入鸭跖草(*Commelina*)的保卫细胞内,经过 30 分钟的恢复后用紫外光照射 30 秒,结果发现无处理和非光解包装脱落酸处理的对照没有气孔关闭现象,而光解性包装脱落酸的处理发生了气孔关闭。这个实验结果表明胞内 ABA 可以诱导脱落酸相应的生理作用,因而可能存在着胞内的 ABA 受体。

## (二)脱落酸调节气孔运动的信号传递途径

如图 13-7 所示,脱落酸调节气孔运动的信号传递是多途径的。这个过程涉及到 $Ca^{2+}$、胞内 pH、蛋白磷酸化和去磷酸化反应等。

**1. $Ca^{2+}$ 与 $IP_3$**

脱落酸处理保卫细胞诱导的初始反应是保卫细胞质膜的去极化(depolarization)反应,这是由于大量胞内阴离子通过质膜上的阴离子通道(anion channel)流出的结果。在去极化诱导过程中伴随着短暂的细胞质内钙离子水平的上升过程,所以脱落酸诱导的保卫细胞质膜的快速去极化反应可能与 ABA 激活钙离子通道有关。

钙离子在调节气孔开闭过程中的重要性可以用下述实验证实。将包装 $Ca^{2+}$(caged form $Ca^{2+}$)用显微注射的方法注人保卫细胞,然后用短暂的紫外光照射释放 $Ca^{2+}$ 进入细胞质内。应用这种方法使细胞质内的 $Ca^{2+}$ 浓度上升到 600nmol/L 以上时,就会诱导气孔关闭;用同样的方法将包装 $IP_3$ 导入保卫细胞,紫外光照射释放后会诱导细胞质内 $Ca^{2+}$ 水平的上升和气孔的关闭。因为 $IP_3$ 是细胞内的第二信使,可以诱导液泡膜和内质网膜上的钙离子通道打开,将其中储存的 $Ca^{2+}$ 释放到细胞质内(参见第四、十八章)。

上述外源导入的 $IP_3$ 诱导气孔关闭的实验表明肌醇脂质信使系统可能也参与了 ABA 的信号传递过程。实验也证实 ABA 的确刺激了蚕豆叶片保卫细胞内磷酸肌醇的代谢,例如在用 $Li^+$ 抑制肌醇磷酸酶的前提下,ABA 处理可以在 10 秒内将胞内 $IP_3$ 的水平提高 90%。

可见 ABA 不仅可以诱导胞外 $Ca^{2+}$ 通过质膜上钙离子通道进入胞内,也可以通过第二信使 $IP_3$ 诱导细胞液泡或内质网内储存的 $Ca^{2+}$ 释放到细胞质内,两种因素可以使保卫细胞细胞质内的钙离子水平从 50~350nmol/L 上升到 1.1μmol/L。和上述包装钙离子实验中的效应相同,升高的钙离子水平可以刺激外向阴离子通道和外向 $K^+$ 通道的活性,并且抑制内向 $K^+$ 通道的活性,使细胞维持一个持续的去极化状态,有利于细胞水势的升高,膨压下降,气孔关闭。

ABA 除了诱导胞内钙离子和 $IP_3$ 水平的升高之外,还诱导细胞质的碱化,脱落酸处理可以使保卫细胞内 pH 从 7.67 上升到 7.94。胞内 pH 的升高可以激活质膜上的外向 $K^+$ 通道。所以人们认为保卫细胞内的 $H^+$ 也是 ABA 诱导气孔关闭的一种信使物质。

**2. 蛋白磷酸化/去磷酸化反应**

几乎所有的细胞信号转导系统都与蛋白质的磷酸化和去磷酸化有关(参见第十八章)。ABA 诱导气孔关闭的生理过程中,蛋白激酶和磷酸酶也参与了信号传递。

例如蛋白激酶抑制剂可以抑制 ABA 诱导的气孔关闭,是因为蛋白激酶抑制剂降低了保卫细胞质膜上 S 型阴离子通道的磷酸化水平;相反地,蛋白磷酸酶抑制剂冈田酸(okadaic acid)可以在缺乏 ATP 的情况下维持 S 型阴离子通道的活性。上述实验表明,阴离子通道维持活性必须是磷酸化状态,脱磷酸化会导致通道活性的丧失。可见蛋白质的磷酸化和脱磷酸化在 ABA 诱导气孔关闭的信号传递过程中具有重要意义。

ABA 激活蛋白激酶(ABA activated protein kinase,AAPK)的发现更证实了蛋白质磷酸化/脱磷酸化是 ABA 信号传递重要机制之一的观点。ABA 处理蚕豆叶片保卫细胞原生质体,会诱导和激活一种 48kDa 的、具有自我磷酸化(autophosphorylation)功能的蛋白质,该蛋白激酶可以催化其他蛋白质上的丝氨酸残基磷酸化反应。

通过对拟南芥 ABA 不敏感突变体 *abi1* 的研究,发现了一种重要的蛋白质 ABI1,ABI1 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶。*ABI1* 基因的变异会导致突变体种子和成熟植株丧失对 ABA 的敏感性,例如降低种子的休眠性、气孔开闭不正常引起的叶片萎蔫,以及许多 ABA 诱导基因表达的降低等。这表明 ABI1 可能是通过调节靶蛋白的磷酸化状态来影响其活性。

有许多的实验证据表明,ABI1 蛋白是 ABA 调节气孔关闭信号传递链上一个重要的信号蛋白。如果用 *ABI1* 基因转化烟草保卫细胞,会使 ABA 丧失对细胞质膜上内向和外向 $K^+$ 离子通道的调节活性。但是 *ABI1* 基因并不影响 ABA 对质膜上 S 型阴离子通道的活性调节,也不影响 ABA 诱导细胞溶质 pH 升高。可见 ABI1 蛋白磷酸酶特异地调节 $K^+$ 通道的活性。ABI1 蛋白磷酸酶还降低外向 $K^+$ 通道对胞质 pH 的敏感性。

## 二、ABA 诱导基因及其表达的调控

### (一) ABA 诱导基因

已知许多逆境条件,如干旱、高渗、低温等可以诱导植物组织内 ABA 水平的升高,同时诱导和逆境相关的特异蛋白质的积累,ABA 是介导环境胁迫和植物抗逆反应的调节物质,所以也称为"逆境激素"。在正常生长条件下,外源 ABA 处理往往也能诱导植物组织产生逆境蛋白 mRNA 的积累。关于 ABA 与抗性基因的关系,请参考第十九章有关内容。

在种子发育的中晚期,ABA 水平上升,同时伴随着一些 ABA 诱导基因的表达和积累。例如和种子抗脱水能力相关的一些蛋白质,如 LEA 蛋白、DHN 蛋白(参见第十二章)等的 mRNA 水平与内源 ABA 水平同步升高,外源 ABA 也可以提前诱导这些蛋白的 mRNA 水平的增加。在种子成熟的中晚期表达的一些基因,如凝集素基因、储藏蛋白基因、酶抑制剂基因等等,也受 ABA 的诱导,外源 ABA 处理也可以使这些基因提前表达。

### (二) ABA 诱导基因的调控

ABA 对基因表达的调控发生在基因表达的各个阶段,ABA 可以在转录水平、转录后水平以及翻译水平上对 ABA 诱导基因的表达进行调控。和赤霉素一样,ABA 诱导基因的启动子上也存在着许多 ABA 应答元件(ABA-response element, ABRE),ABRE 就是所谓的 ABA 诱导基因的顺式作用元件,而和这些顺式作用元件相结合的 DNA 结合蛋白质(也称转录因子),起着促进或抑制转录的作用,是所谓的"反式作用因子"。下面分别介绍在 ABA 调控基因表达机制中的顺式作用元件和反式作用因子。

**1. ABA 诱导基因的顺式作用元件**

已经鉴定的 ABA 诱导基因的顺式作用元件非常多,其中比较典型的是小麦 *Em* 基因的 *Em1a* 元件和水稻 *rab16A* 基因的 *Motif1* 元件。这两种 ABA 应答元件的鉴定方法也是利用前述基因的启动子与报告基因(*GUS* 基因)整合,然后用删除分析确定 ABA 应答元件及其序列(参见本章第二节)。各种 ABRE 的基序(sequence motif)具有很高的保守性,例如 *Em1a* 元件和 *Motif1* 元件十分相似,都具有 CACGTG 基序(motif),该基序序列也称为 G-box,与 G-box 有关的一些基序参与多种环境因子对基因表达的调控,如光、厌氧条件等。其他一些 ABA 应答元件也含有上述 ACGT 核心的基序。

虽然*Emla*元件和*Motif1*元件是小麦*Em*基因和水稻*rab16A*基因表达所必不可少的，但是这些基因的完全表达，还必须依赖其他元件的协同作用。例如大麦的ABA诱导基因*HAV22*具有一个含G盒的*ABRE*，但是它必须和另一个元件*CE1*(TGCCACCGG)偶联，才能诱导ABA诱导基因的高水平表达。

上述*ABRE*都是ABA促进基因转录活性的响应元件，另外还存在一些ABA抑制基因转录活性的响应元件，例如赤霉素响应元件(*GARE*)是赤霉素诱导大麦α-淀粉酶基因(如*Amyl*/6-4和*Amyl326*基因)所必需的，但同时*GARE*也是ABA阻抑α-淀粉酶基因表达的响应元件。

**2. ABA诱导基因的反式作用元件**

凝胶阻滞分析(参见本章第二节)和足迹实验(foot printing)鉴定出了与上述*Emla*元件和*motif 1*元件特异结合的DNA结合蛋白质，它们分别是从小麦分离出的EmBP-1蛋白和TAF-1蛋白，并获得了编码这两种蛋白的cDNA克隆，两者都具有两个相邻的亮氨酸拉链区(basic leucine zipper，bZIP)，具有bZIP转录因子家族的特征。bZIP蛋白和含有ACGT元件的ABRE产生专一性结合，调节ABA诱导基因的转录活性。

在种子成熟过程中起作用的一些ABA诱导基因的转录因子也获得了鉴定。例如在玉米*vp1*(viviparous-1)和拟南芥*abi3*(ABA-insensitive-3)突变体中的VP1蛋白和ABI3蛋白的氨基酸序列非常相似，都具有转录因子的特征。

# 第五节 乙 烯

## 一、乙烯受体

由于乙烯是一种结构极其简单的气态激素，与我们讨论过的其他激素相比具有很大的特殊性，所以关于乙烯生理作用及其机制的研究一直存在着许多困难。但是近年来乙烯信号传递途径的研究，尤其是乙烯受体的研究取得了极大的进步，是目前所有植物激素受体研究中最为典型的一个范例。这些成果的取得主要得益于拟南芥乙烯突变体分子生物学研究的进展。所以在讨论乙烯受体及其下游的信号传递途径之前，先介绍一些与乙烯反应有关的拟南芥突变体。

### (一) 拟南芥乙烯反应突变体

在乙烯信号传递途径的研究中应用的拟南芥突变体主要有下述两种类型。

**1. 乙烯不敏感突变体**

在拟南芥乙烯突变体的筛选中，主要是以乙烯典型的生物效应——三重反应作为筛选标准。将诱变的拟南芥种子在避光条件下发芽3天，同时给予适当浓度的乙烯处理。野生型植株均表现矮化等三重反应，而对乙烯不敏感的突变体则"鹤立鸡群"，具有较长的株高和开放的茎尖弯钩(hooks)(图12-38)。利用这种方法，目前已经鉴定出的拟南芥乙烯不敏感突变体有：*etr1*(ethylene resistant *1*)、*ein2*(ethylene insensitive 2)、*ein3*、*ein4*、*ein5*、*ein6*、*ein7*、*ain1*(auxin insensitive 1)。

其中第一个被鉴定的乙烯不敏感突变体*etr1*，是一种显性突变(图12-38)，*etr1*突变体丧失了所有乙烯的生物反应，而且乙烯结合能力仅为野生型的1/5，表明*etr1*突变使受体结合乙烯的能力受损。*ein4*是也是一种强显性突变体，具有*etr1*类似的表型，*ein2*则是隐性突变体。所有这些乙烯不敏感突变体的乙烯合成能力比野生型还要强，是典型的乙烯不敏感突变体。

**2. 组成型三重反应突变体**

在上述的筛选实验中，如果在不用乙烯处理的情况下仍然表现三重反应的突变株(图13-9)称为组成型三重反应突变体(constitutive triple response 1，所谓组成型反应指无诱导条件存在也能持续

表现反应)。这是一种隐性突变,在乙烯处理的情况下,和野生型植株一样表现三重反应,但是在撤除乙烯或移到光照条件下后,仍然维持乙烯反应的特征,如茎尖弯钩不展开、细胞较小,叶片和花序致密等。*ctr* 突变引起所有乙烯诱导基因的组成型激活,而且对所有乙烯合成抑制剂和生理作用拮抗剂不敏感。

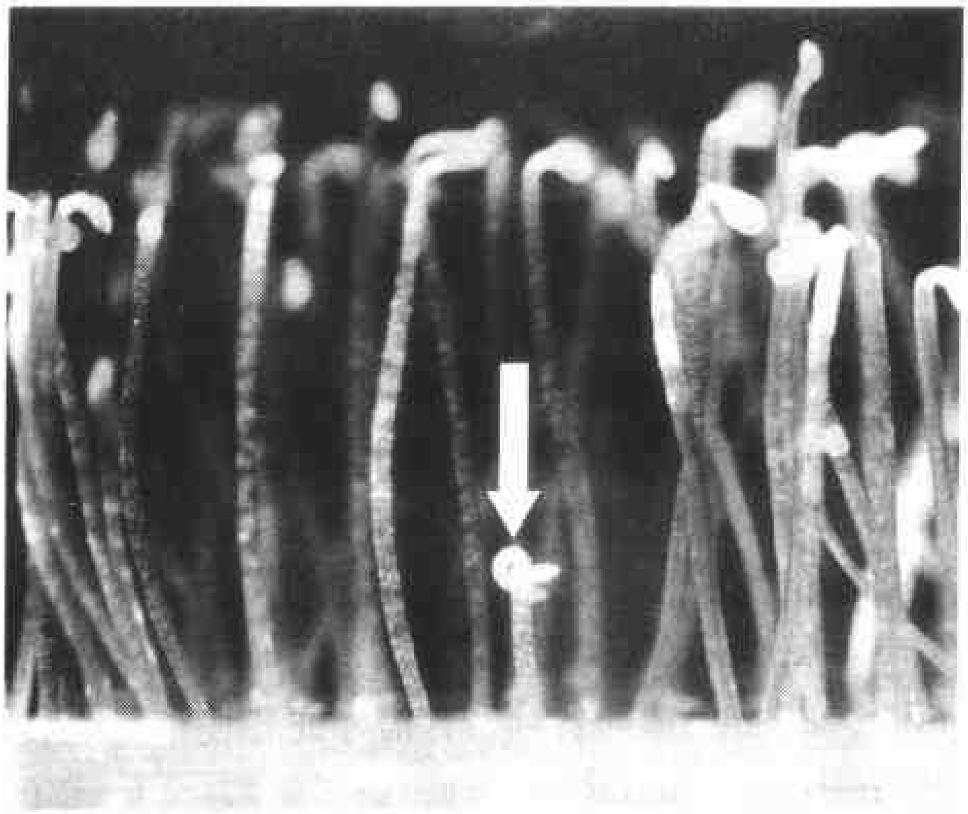


图 13-9 拟南芥组成型三重反应突变体的筛选(仿 J. Kieber)
拟南芥幼苗在避光条件和正常空气条件下生长三天。其中箭头标注的突变体(*ctr1*)持续表现三重反应特征。

## (二) *ETR1* 编码乙烯受体蛋白

利用同位素标记的乙烯进行的实验表明,*etr1* 突变体对乙烯的结合能力极低,表明 *etr1* 的突变与乙烯的受体有关。ETR1 蛋白的基本结构如图 13-10 所示。在 N 端具有一个疏水结构域,有 3 段跨膜结构。其 N 端在细胞质膜外侧,C 端在细胞质膜内侧,疏水的 N 端一个或多个氨基酸的突变会导致乙烯结合能力的降低或丧失。

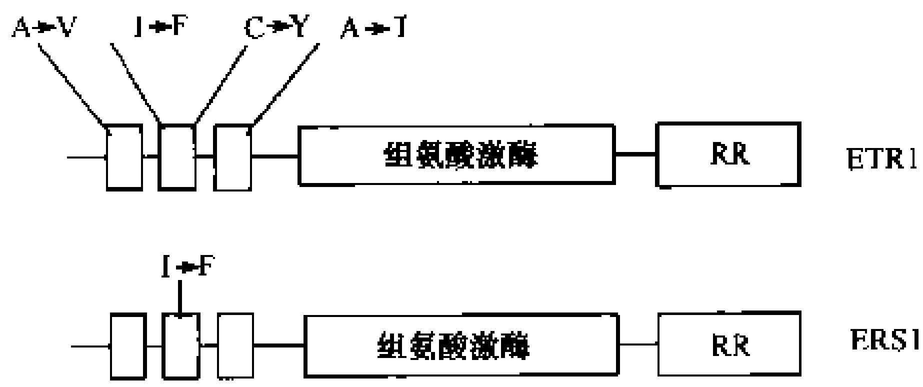



图 13-10 拟南芥乙烯受体 ETR1 和 ERS1 的结构
左侧三小框表示疏水序列。组氨酸激酶和 RR 方框表示与细菌受体二元信号传递系统的组氨酸激酶和反应调节器(RR)的结构域同源的序列。序列上的字母表示导致 ETR1 和 ERS1 发生乙烯不敏感突变的氨基酸变异。

ETR1 蛋白的 C 端氨基酸序列与已知的细菌受体的二元结构组氨酸激酶信号系统(参见第十八章)具有极高的相似性。二元信号系统是细菌对各种环境信号进行反应的基本机制,ETR1 是真核生物中第一例被鉴定的组氨酸激酶,其后在酵母、哺乳动物和植物中都发现了组氨酸激酶二元信号系统,例如植物中光敏素和细胞分裂素受体都具有二元组氨酸激酶信号系统类似的结构。根据 ETR1 的氨基酸序列推断其分子质量为 83kDa,但是用 SDS-PAGE 电泳分析拟南芥的 ETR1 蛋白质分子质量为 147kDa,所以天然的 ETR1 蛋白质是以含二硫键的同源二聚体(homodimer)形式存在的。进一步的分析证明,在氨基末端的一对 Cys 残基对于二硫键的形成是必需的。

为了确定 ETR1 的乙烯受体特性,有人将 *ETR1* 基因导入酵母进行表达,获得的 ETR1 蛋白具有与$^{14}$C-乙烯结合的能力,相反地导入突变体 *etr1* 基因的转基因酵母不能与乙烯结合。这与 *etr1* 突变体丧失乙烯结合能力是一致的。*ETR1* 转基因酵母与乙烯的结合受乙烯作用的竞争性抑制剂反式环辛烯和 2,5-降冰片二烯(NBD)所抑制。这些结果表明,乙烯与转基因酵母 ETR1 蛋白的结合特性与植物组织中观察到的乙烯结合特性十分相似,ETR1 蛋白具有与乙烯可逆结合的能力,是乙烯的特异结合蛋白。

现已证明,ETR1 蛋白 N 端疏水结构域是乙烯结合的位点。乙烯的脂溶性比水溶性大,ETR1 的疏水结构域作为乙烯的结合部位具有合理性。实验表明,转基因酵母中仅含有 N 端疏水结构域的 ETR1 降解蛋白仍能结合乙烯,而且已经发现的有关 *ETR1* 的 4 个突变体都是由于疏水结构域中的一个氨基酸发生变异而引起的点突变,从而丧失乙烯结合能力。在各种 ETR1 同源蛋白中,N 端区域的氨基酸序列表现出极大的保守性,也佐证了其功能的重要性。根据 ETR1 蛋白的乙烯结合能力以及它与细菌二元信号系统具有同源性,可以确认 ETR1 蛋白是乙烯受体,或称乙烯传感蛋白(ethylene

sensor protein)。

## 二、乙烯信号传递系统

### (一) CTR1、EIN2、EIN3 蛋白

拟南芥的 *ctr1* 突变体是一种组成型三重反应突变体,说明 *CTR1* 的突变失活具有释放乙烯信号传递途径的作用,反过来可以推断野生型植株内的 CTR1 是乙烯传递途径上起抑制乙烯信号传递的一个负调节子。通过基因克隆和序列分析,发现 CTR1 蛋白是一种类似于 Raf 蛋白激酶家族的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。在许多真核生物里,Raf 蛋白激酶将细胞表面受体信号传递到转录因子,进而影响细胞的生长和分化,即 Raf 蛋白作为分裂原激活的蛋白激酶激酶激酶(mitogen-activated protein kinase kinase kinase, MAPKKK),依次通过 MAPKK、MAPK、MAP 的磷酸化级联反应(phosphorylation cascade)参与各种发育信号或环境信号的转导。正如下面将要讨论的,CTR1 在乙烯信号传递途径中存在于 ETR1 的下游,通过磷酸化更下游的靶蛋白起到抑制乙烯生理效应的作用。

EIN2 基因编码一种含 12 个跨膜结构域的蛋白质,可能是一种离子通道蛋白;EIN3 基因编码一种转录因子。

### (二) 乙烯信号传递途径的模型

乙烯信号传递途径的基因作用顺序分析应用了双突变(doubly mutant)分析方法。例如 *etr1* 和 *ctr1* 双突变体表现 *ctr1* 的表型,那么说明 *CTR1* 是 *ETR1* 的下游基因;又如 *ctr1* 和 *ein2* 双突变体表现 *ein2* 的表型,那么 *EIN2* 是 *CTR1* 的下游基因;根据双突变分析得出的结果,可以得出各基因在乙烯信号传递过程中的顺序模型如下:

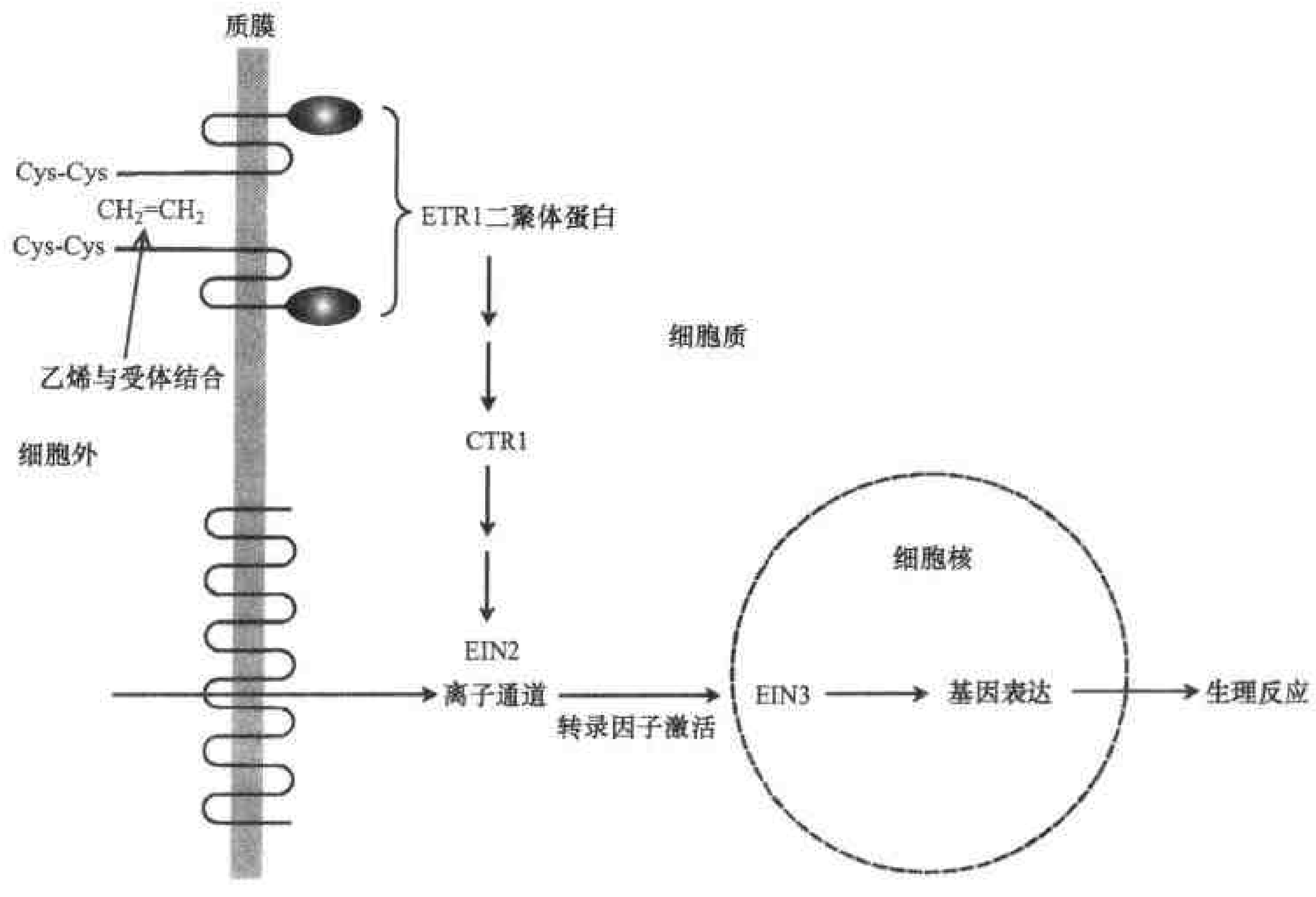



图 13-11 拟南芥乙烯信号传递模型(Taiz & Zeiger 1998)

①乙烯与质膜上的 ETR1 二聚体受体蛋白结合;②乙烯与受体结合后使负调节因子 CTR1 失活;③失活的 CTR1 释放跨膜蛋白 EIN2 的活性,EIN2 具有 12 个跨膜域,可能是一个离子通道蛋白;④最后活化转录因子 EIN3 蛋白,调节乙烯诱导基因的表达。

乙烯→ *ETR1*/*EIN4*/*ERS*→*CTR1*→*EIN2*→*EIN3*→乙烯诱导基因→生理效应

其中 *EIN4* 和 *ERS* 是 *ETR1* 的同工型基因。总结上面的内容，可以将拟南芥中乙烯的信号传递模型表示如图 13-11。应该指出的是，图中相邻因子之间有无其他因子存在以及有何因子存在仍然不是十分清楚，需要进一步深入的研究。

在其他植物中也发现了与拟南芥相似的乙烯信号传递途径。例如在番茄的"永不成熟突变体"(never-ripe mutation, *nr*)，*nr* 突变体的果实即使用外源乙烯处理也不能成熟，同时对其他乙烯效应都有广泛的抑制。*Nr* 基因与 *ETR1* 基因高度一致，说明 *Nr* 基因也可能是编码乙烯受体的基因。还有其他许多研究表明，图 13-10 所示的乙烯信号传递模型在各种植物中具有普遍性。

## 三、乙烯诱导基因

已经鉴定的乙烯诱导基因种类极其繁杂，包括纤维素酶、几丁质酶、β-1,3-葡聚糖酶、过氧化物酶、查耳酮合成酶(黄酮类化合物合成过程中的重要酶类)、许多病程相关蛋白(参见第十九章)以及许多与成熟相关的蛋白，另外，乙烯甚至还能促进与自身生物合成有关的许多酶的基因表达，如 ACC 合成酶、ACC 氧化酶，这与果实成熟过程中乙烯的自催化性质有关(参见第十七章)。

和赤霉素、脱落酸情况相似，乙烯调节基因表达的过程中也有相应的顺式作用元件和反式作用因子。乙烯调节基因表达的顺式作用元件是乙烯诱导基因上的乙烯应答元件(ethylene response element, ERE)。例如乙烯诱导的 PR 基因启动子上有 ERE 的存在，具有重复的 GCCGCC 特征基序(motif)。乙烯调节基因表达的反式作用因子是与 ERE 特异结合的 DNA 结合蛋白，也称 EREBP (ERE-binding protein)。在烟草中鉴定出了 4 种 EREBP。乙烯处理可以大幅度提高组织中 EREBP 的水平，所以编码 EREBP 的基因可能是乙烯的初期反应基因(早期基因)，EREBP 进而调节次级反应基因(如 PR 基因)的表达。

# 小　　结

研究植物激素作用的分子机理，就是探讨从激素分子与受体分子结合开始到生理效应发生为止的信号转导途径，以及该途径每个环节的分子组成和反应模式。

存在于内质网膜上的 ABP1 被认为最有可能是生长素受体，并与生长素诱导的生理效应如质膜超极化等生理过程有关。细胞质膜上也存在生长素结合蛋白。在刺激 CDK 合成、调节植物细胞分裂的过程中，生长素的信号传递可能与 MAP 激酶信号传递系统有关系。植物细胞内可能存在着另一条生长素的信号传递途径，即生长素增加 PAL2 活性，PAL2 参与植物体内的类花生酸途径，合成前列腺素，进而刺激前列腺素依赖的腺苷单磷酸环化酶活性增加，形成 cAMP 高峰，诱导植物细胞的分裂。生长素信号传递途径的研究还表明，$IP_3$、$Ca^{2+}$ 以及胞质 pH 等因子都与生长素的信号传导有关系。生长素和受体结合后，经过一系列的信号传递途径，最终活化一些转录因子，这些转录因子进入核内后可以控制特定基因的表达。生长素诱导基因根据转录因子的不同可以分为两类：早期基因(初始反应基因)和晚期基因(次级反应基因)。

赤霉素诱导大麦种子糊粉层 α-淀粉酶合成的分子生物学机制是植物激素分子作用机理的研究的一个典范。赤霉素诱导糊粉层细胞 α-淀粉酶合成过程中，赤霉素受体存在于质膜上。赤霉素诱导糊粉层水解酶的合成和分泌这两个过程，其中参与赤霉素诱导初始反应基因 *GAMYB* 表达的信号传递途径是 cGMP 依赖途径；而参与赤霉素诱导 α-淀粉酶分泌的信号传递是 $Ca^{2+}$-钙调素依赖途径。赤霉素和细胞质膜上的受体结合，通过由膜上 G 蛋白介导的信号传递系统，活化了细胞既存的活化因子，该活化因子进入核内和 *GA-MYB* 基因的抑制子结合，使 *GA-MYB* 基因脱阻抑，合成 GA-MYB 蛋白。

合成的 MYB 蛋白和 α-淀粉酶基因启动子上的赤霉素响应元件结合，诱导 α-淀粉酶 mRNA 的合成，最后通过翻译加工合成 α-淀粉酶，并分泌到胚乳中发挥作用。

已知的细胞分裂素受体可以分为细胞质受体和质膜受体两类。其中 *CKI1* 基因编码的蛋白质氨基酸序列完全符合受体的二元调节系统模型，说明 CKI1 蛋白极有可能是细胞分裂素的受体。CKI1 分布在质膜上，可能是通过激发一系列的信号传递系统来诱导生理反应的。典型的细胞分裂素诱导基因是硝酸还原酶基因，细胞分裂素还可以在后转录水平对基因表达进行调控。细胞分裂素信号传递途径中，钙离子是一个非常重要的组分，它可能与细胞内的钙离子结合蛋白——钙调素一起发挥各种生理调节作用。

脱落酸同时具有胞内和胞外两类受体。脱落酸调节气孔运动的信号传递是多途径的。这个过程涉及到 $Ca^{2+}$、胞内 pH、磷酸化和脱磷酸化反应等。ABA 可以诱导许多逆境蛋白基因的表达，在种子成熟的中晚期表达的一些基因，如 LEA 蛋白，DHN 蛋白、凝集素基因、储藏蛋白基因、酶抑制剂基因等都受 ABA 的诱导。ABAbZIP 转录因子诱导基因的启动子上也存在着许多 ABA 应答元件，是 ABA 诱导基因的顺式作用元件，bZIP 转录因子蛋白和含有 ACGT 元件的 ABRE 产生专一性结合，调节 ABA 诱导基因的转录活性。

拟南芥乙烯不敏感突变体和组成型三重反应突变体的研究，使乙烯受体的研究取得了极大的进展。根据 ETR1 蛋白的乙烯结合能力以及它与细菌二元传感系统具有同源性，可以确认 ETR1 蛋白是乙烯受体。乙烯信号传递过程中的顺序可能是乙烯→*ETR1*/*EIN4*/*ERS*→*CTR1*→*EIN2*→*EIN3*→乙烯诱导基因→生理效应。乙烯诱导基因包括纤维素酶、几丁质酶、β-1，3-葡聚糖酶、过氧化物酶、查耳酮合成酶、许多病程相关蛋白(PR)以及许多与成熟相关蛋白的编码基因，另外，乙烯甚至还能促进与自身生物合成有关的许多酶的基因表达。乙烯调节基因表达的过程中也有相应的顺式作用元件和反式作用因子，如乙烯诱导基因上的乙烯响应元件 *ERE* 和与 *ERE* 特异结合的 DNA 结合蛋白(EREBP)。

**思考题**

(1) 什么是生长素的早期反应基因和次级反应基因?

(2) 什么是赤霉素响应元件复合体?

(3) 简述赤霉素诱导大麦种子糊粉层 α-淀粉酶合成的分子生物学机制。

(4) 简述脱落酸调节气孔运动的分子机制。

(5) 列举若干与乙烯信号传递有关的拟南芥突变体。

(6) 为什么说 ETR1 蛋白是乙烯受体蛋白?

(7) 简述植物体内的乙烯信号转导途径。

# 第十四章　植物的运动

动物可通过运动寻找适合生存的环境，植物也能运动吗？植物不能像动物一样自由地整体移动，但也可在细胞或器官水平上运动，以避开不利环境、充分利用有利条件而生存。虽然植物的运动常不为人觉察，但却是贯穿于植物一生中的。

植物的运动按其与外界刺激的关系可分为向性运动和感性运动，按其运动的机理可分为生长运动、膨压运动等。

## 第一节　向性运动

向性运动（tropic movement）指植物器官对环境因素的单方向刺激所引起的定向运动。按照刺激因素可将向性运动分为向光性（phototropism）、向重力性（gravitropism）、向触性（thigmotropism）、向化性（chemotropism）等。将朝向刺激方向的运动称为"正向性"运动，而背向刺激方向的运动称为"负向性"运动。几乎所有的向性运动都是生长性运动，是在一定的刺激下，植物的某特定部位发生了不均匀生长而引起的。植物的向性运动一般包括三个步骤：①感受刺激（perception），植物体的感受器官接受环境因素刺激；②信号转换（transduction），感受部位的细胞将刺激转换为细胞内的物理或化学信号；③生长运动，植物的生长部位发生不均匀生长。植物对刺激的感受器官和生长部位往往是分开的。

### 一、向　光　性

植物感受光信号刺激引起的弯曲生长称向光性（phototropism）。高等植物的地上部分，胚芽鞘、子叶、茎、叶等多发生正向光弯曲生长，使叶片处于最适宜利用光能的位置。一般来说，地下器官对光的感应不敏感，但如芥菜等某些植物的根具有一定的负向光性（negative phototropism）。

#### （一）植物向光性现象

早在1880年，Darwin就描述了许多向光性现象，如一些单子叶植物的胚芽鞘向照光的方向弯曲生长。在实验室内多用单向光照射单子叶植物的胚芽鞘来研究植物的向光性，在自然环境中，绿色植物叶片就有向光性反应，如某些在室内生长的植物，叶片朝向阳光照射的窗口；被遮阴叶片的叶柄伸长使叶片能暴露在阳光下。大片植物生长较密或一面靠墙时，仔细观察可见叶片嵌合（leaf mosaics）、相互错开以充分接收阳光。



图 14-1　向日葵跟踪太阳的现象
（Moore et al. 1998）

棉花、向日葵、花生、大豆、苜蓿等植物顶端在一天中随太阳而转动，每天早上，叶片朝向太阳升起的东方，而后随太阳转动

至傍晚向西方，叶片和太阳光线始终保持一定的角度，以利于吸收光能，呈现一幅生机盎然的“跟踪太阳”(solar tracking)的景象(图 14-1)。这种运动可称为横向光性(diaphototropism)。但这种叶片的转动不是生长运动，而是由叶柄基部的叶枕运动细胞(motor cell)膨压变化控制的，其对光的反应可以很快，在阴天多云时，叶片处于水平位置，一旦太阳从云中露出，叶片会以每小时转动 60°的速度紧跟着太阳运动。有趣的是，幼苗在经过几天的学习后，在黎明前 1～2 小时叶片就会朝向东方，植物如何能对日出方向保持记忆，仍然是个谜。

在热带雨林中的许多藤本植物，在种子萌发后总是向着靠近的树生长，而后缠绕树干向上攀援，常可看到成千的幼苗朝向一棵树生长。实验发现，这些幼苗生长的朝向不是依赖于光的方向，而是取决于暗的方向，因此它不是负向光性，而被称为向暗性(skototropism)，当它们一旦接触到树干时，则表现出正向光性而朝向透过树叶的光线方向生长，这种生长中可能也包括向重力性和向触性的作用。

## （二）光的感受和信号传导

**1. 作用光谱和光受体色素**

早就注意到蓝光能有效地引起向光性反应。从燕麦胚芽鞘向光性的作用光谱图中(图 14-2)可见，在 420～480nm 的蓝光区中，峰值在 445nm；在 360～380nm 的紫外光区也有一 370nm 的小峰。可以推测，向光性反应是一种蓝光反应，其光受体应是蓝光受体。比较其作用光谱和存在于胚芽鞘中的某些吸收蓝光的色素的吸收光谱，在蓝光部分与类胡萝卜素的吸收高峰相似，而紫外光部分的高峰与核黄素相似，二者均有证据支持被作为向光性反应的光受体色素，也有人认为可能是两种色素的共同作用。由于一些胡萝卜素含量很低的突变体植物或用胡萝卜素生物合成抑制剂处理后的植物仍表现向光性反应，所以目前认为黄素蛋白更可能是向光性反应中接受蓝光的受体。接受蓝光的受体色素也被称为隐花色素(cryptochrome)。

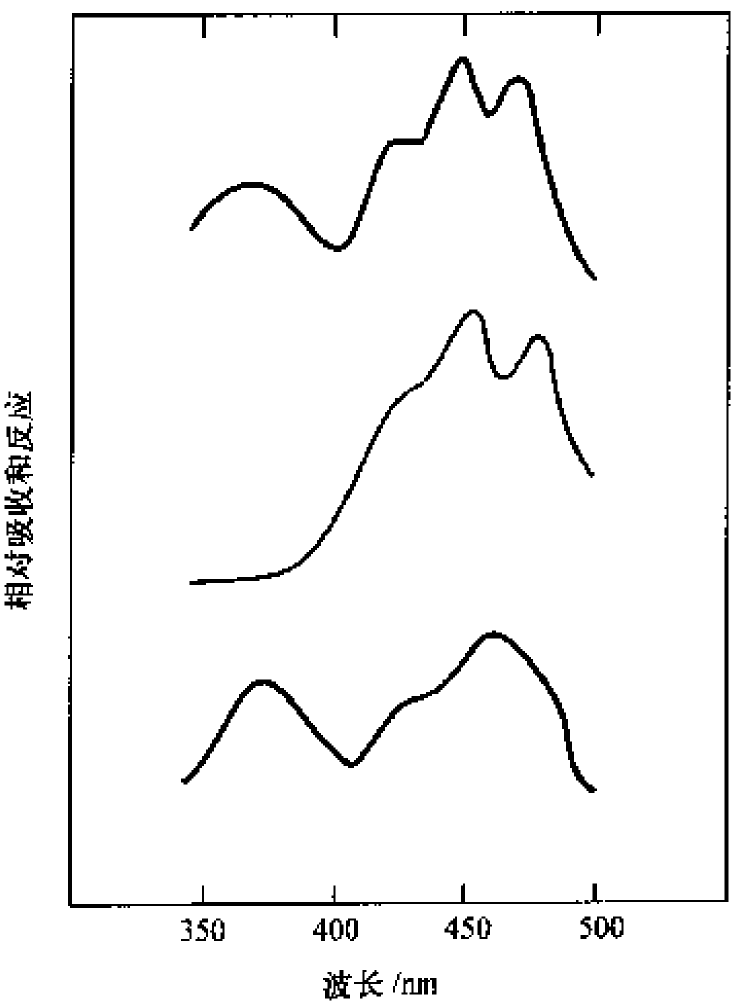



图 14-2　燕麦胚芽鞘的向光性作用光谱(A)及胡萝卜素(B)和核黄素(C)的吸收光谱
(Hopkins　1995)

**2. 光信号转换**

Darwin 的观察发现是胚芽鞘的尖端感受光的方向，但发生弯曲生长的部位却是在尖端以下的伸长区，由此推测从尖端向下传递了某种信号物质，后来发现是生长素。20 世纪 20 年代，Cholodny 和 Went 提出植物向光性机制，即 Cholodny-Went 模型：接受单向光信号的部位是胚芽鞘尖端，如玉米胚芽鞘尖端 1～2mm 处产生游离态生长素，在光的影响下，生长素在 5mm 以内区域发生横向运输，更多的分布到背光一侧，促进伸长区背光一侧更快的生长而导致向光弯曲。如图 14-3 所示：切下玉米胚芽鞘尖端，放置在琼脂块上，在黑暗和照光条件下，尖端合成的生长素向琼脂块中均匀扩散(A，B)；如果用薄云母片将胚芽鞘分隔成两半，给予单向光照射，扩散到两半琼脂块中的生长素含量一样(C)；但如果仅将胚芽鞘部分分开，则经单向光照射后，背光侧生长素含量高于向光侧(D)。即在胚芽鞘尖端发生了单向光刺激的生长素侧向分布。

在 20 世纪 70 年代后期，用生物测定和现代物理化学方法重复了 Went 的实验，生物测定法得到和 Went 类似的结果，而物理化学方法得到的结果显示背光和向光两侧的生长素含量没有明显的差

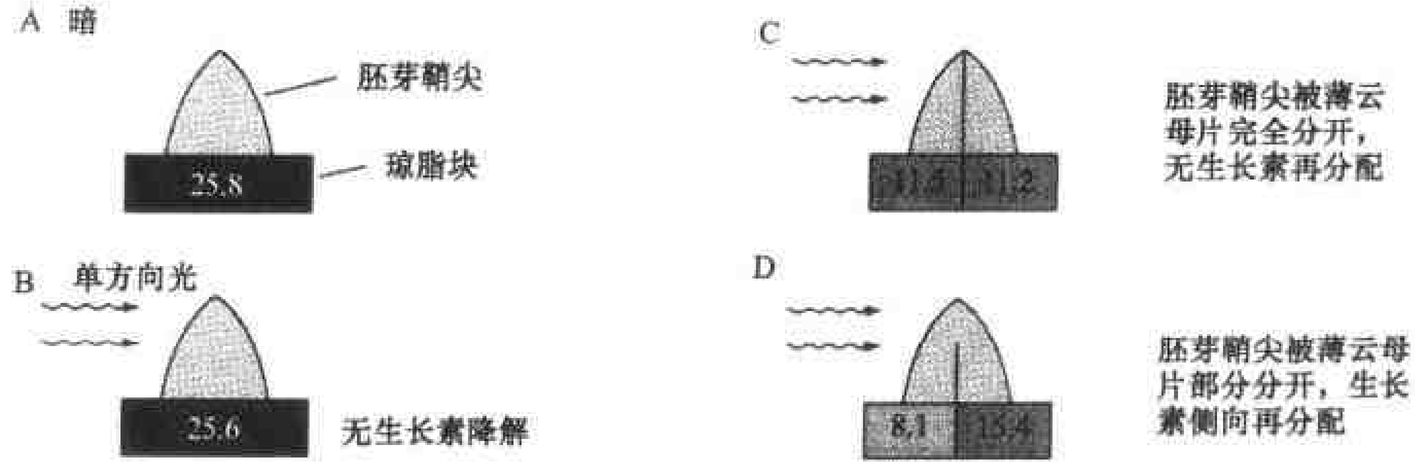



图 14-3 单方向光引起玉米胚芽鞘生长素侧向再分布(Taiz & Zeiger 1998)

A. 在暗中，离体玉米胚芽鞘尖中的生长素扩散进入琼脂块，其数字表示所含生长素引起的燕麦胚芽鞘的弯曲度。B. 在单方向光照射下，与暗中同样量的生长素扩散进入琼脂块。说明单方向光未导致照光侧生长素降解。C. 胚芽鞘和琼脂块被从中间完全隔开时，没有观察到生长素的侧向再分布或背光侧生长素生物合成增加。D. 当胚芽鞘尖端被部分隔开时，观察到对单方向光的响应是生长素的侧向再分布。

异。由此，人们对 Cholodny-Went 模型提出质疑，进一步以燕麦胚芽鞘、绿色的向日葵下胚轴、小萝卜下胚轴等单双子叶植物为材料进行实验，对琼脂块中的物质分析的结果显示，在单方向光照射后，IAA 在两侧的含量并无大的差异，但向光侧和背光侧中一些抑制物质的含量不同，如在向日葵下胚轴中，向光侧含有较多的黄质醛，萝卜苗中有萝卜宁等物质抑制了向光侧的生长。双子叶植物的向光性反应更可能有不同的机制。

目前对蓝光引起向光性反应的分子机制仍不清楚。近年来发现，在依赖蓝光的向光性反应中，可能有蛋白质磷酸化作用介入。在拟南芥的幼嫩胚芽鞘细胞膜上发现有一 120 kDa 的膜蛋白表现依赖蓝光的磷酸化，而缺乏这个 120 kDa 的膜蛋白的拟南芥突变体 *nph1* 的下胚轴不表现向光性反应，但这种突变体仍具有一般的蓝光抑制伸长的反应。预示这个膜蛋白具有蓝光受体的特征，其磷酸化介入了依赖蓝光的向光性反应。并发现在单向光照射下，燕麦胚芽鞘细胞膜的这个 120 kDa 膜蛋白的磷酸化呈现特定的纵向和横向梯度，是否由此而产生 IAA 分布的梯度，导致胚芽鞘不均匀生长而向光弯曲需进一步证实(Salomon 1996)。

## 二、向重力性

生长在地球上的植物，总是受到地心引力的影响。早在 1806 年，Kinght 就指出，植物的器官利用重力指导生长。虽然播种在土壤中的种子的方向是随机的，但萌发后，植物的根总是朝重力方向在土壤中生长，而芽会穿透土层使茎叶在空间展开，即茎叶总是背向重力方向生长，这使根系从土壤中吸收水分和养分而叶片能接受阳光进行光合作用。植物感受重力的刺激，在重力方向上发生生长反应的现象称向重力性(gravitropism)。对重力感受的部位限于生长的某些部位，如根冠、茎端 10mm 的幼嫩部位、禾本科植物的节间等。

### (一) 根的向重力性

无论将萌发的种子放置在什么位置，植物的根系总是朝向重力生长，这是正的向重力性。达尔文的实验证明，去除根冠的根系虽然继续生长但却失去了向重力性反应，当根冠再生后，根又恢复了对重力的敏感性，说明感受重力的敏感部位是根冠，但是发生不均匀弯曲生长的部位是根的伸长区。

对于植物根感受重力的机制，一般认为，由根冠中细胞的特殊淀粉体感受重力，而后产生和传递信息，生长素的不均匀分布导致弯曲生长，即 Cholodny-Went 模型也被用于解释根的向重力性。

### 1. 淀粉体感受重力

因为观察到感受重力的部位是根冠，人们即对根冠进行了仔细的观察，发现根冠的柱细胞中含有许多特殊的造粉质体或称淀粉体（amyloplast），这些淀粉体较大，其中含几个大的淀粉粒，并且可发生位移。将根从垂直向水平方向放置时，这些淀粉体会向重力方向沉降；重力刺激反应的最短时间——阈时（presentation time）和淀粉体沉降的速度相关，某些植物在 12～20 秒；用低温或激素处理使淀粉体中的淀粉被耗尽后，根对重力的敏感性降低，而淀粉粒重新出现后就恢复向重力性；用激光切去拟南芥根尖含淀粉体的中央柱细胞，则其根的生长失去向重力性；仅有小淀粉体的玉米突变体对重力的反应减弱；一种不能进行光合作用的玉米突变体 hcf-3 的幼苗没有向重力的反应，但用蔗糖饲喂后，根冠中出现淀粉体，同时也具有了向重力性反应。淀粉体的密度比较大，易于沉降。所有这些实验证据说明这种可沉降的淀粉体具有感受和传递重力信息的功能，这种特殊的淀粉体类似于某些动物的"平衡石"（statolith）。当根直立向重力方向时，这些淀粉体对根冠柱细胞中的周边内质网（peripheral ER）的压力是均匀分布的，当根横向时，对细胞两侧内质网的压力不均并迅速下沉，以此来传导重力信号（图 14-4）。

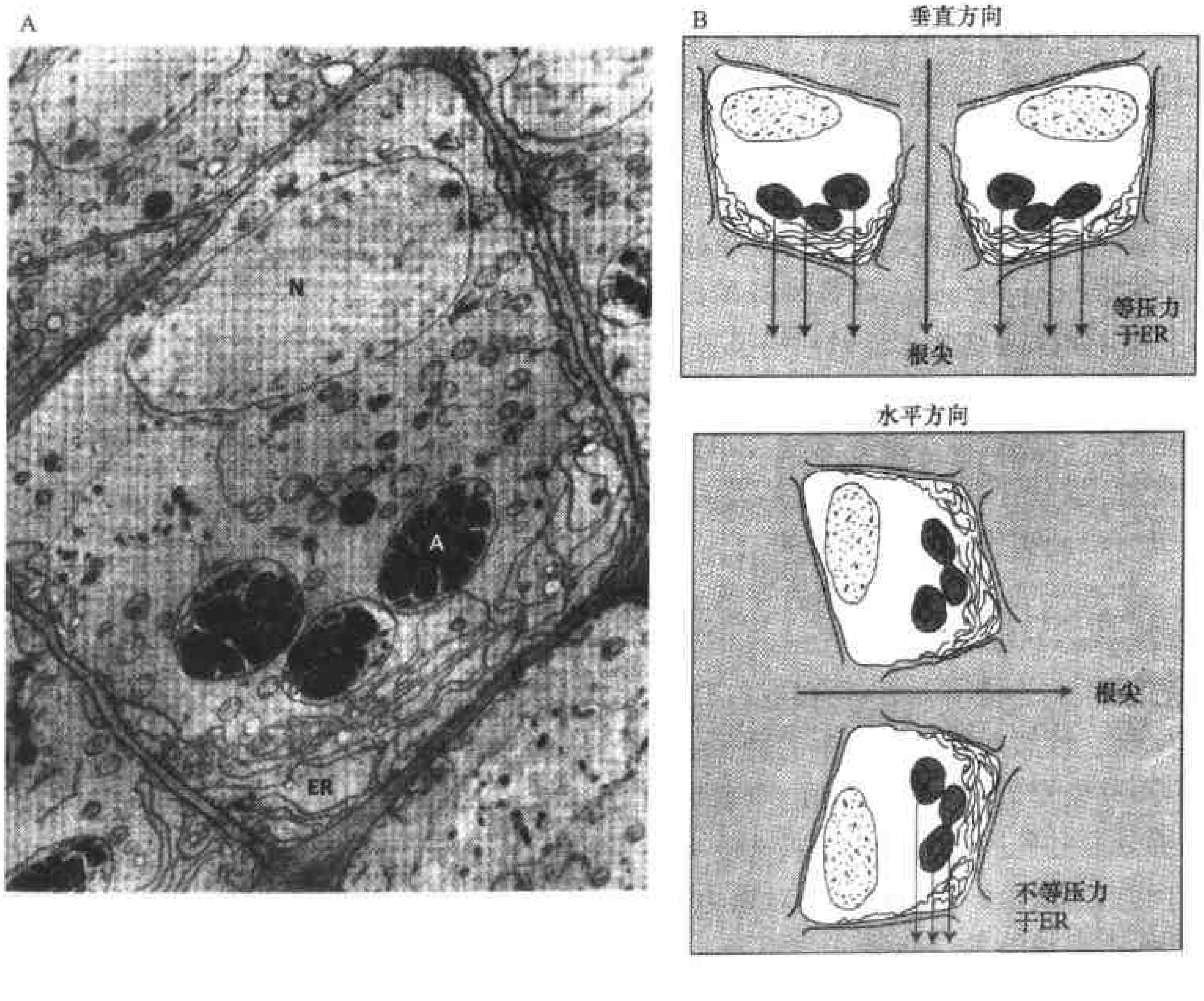



图 14-4　水芹根平衡石对重力的感受（Taiz & Zeiger　1998）

A. 水芹初生根根冠柱细胞中的平衡石，充满淀粉的淀粉体接靠内质网。B. 细胞方位转动时，淀粉体沉降并保持接靠内质网。当根处于垂直方位时，淀粉体对内质网产生的压力均匀分布；当根处于水平方位时，根纵轴两侧内质网受到的压力不均。

### 2. 信号传导

植物对重力的感受和生长反应不是简单的淀粉体沉降所能完成的，在根冠感受重力和生长反应之间必然有信号传递过程，其分子机制仍是个谜。由于 $Ca^{2+}$ 是许多刺激转导途径中的胞内信使，推测

在根的向重力性反应中，$Ca^{2+}$ 也起第二信使作用。当玉米根冠用 $Ca^{2+}$ 的螯合剂 EDTA 处理后，根对重力失去敏感性，再提供 $Ca^{2+}$，则恢复向重力性，但根的伸长生长至少在几小时内没有受到影响；如果阻止 $Ca^{2+}$ 在根中的移动，则根失去向重力性；将含 $Ca^{2+}$ 的琼脂块靠近根尖的一侧，则根向这一侧弯曲（图 14-5）。测定结果表明根冠细胞内含高水平的 $Ca^{2+}$ 和 CaM，从根尖向根基部存在由高到低的 $Ca^{2+}$ 和 CaM 梯度，而且用 CaM 的抑制剂氯丙嗪能抑制根的向重力反应，但不抑制根的生长速率；根冠细胞淀粉体和细胞骨架上都有 CaM；通道阻断剂和 ATPase 抑制剂也使根的向重力反应消失。这些实验都说明 $Ca^{2+}$ 和 CaM 在向重力性反应中起重要作用。也有间接证据表明 $IP_3$ 作为第二信使介入向重力性反应的信号转导。

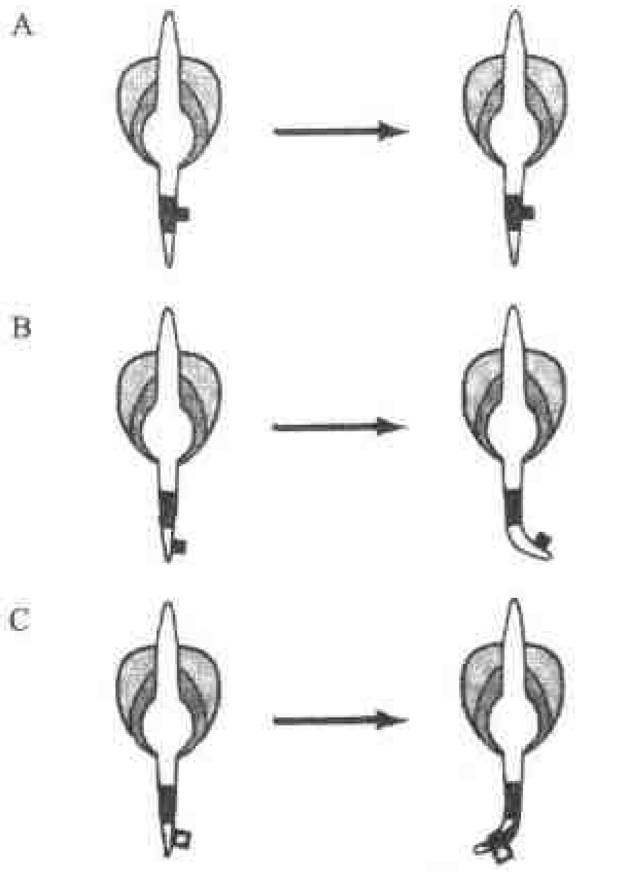



图 14-5　玉米初生根生长对钙的反应（Hopkins　1995）

A. 将含 $Ca^{2+}$ 琼脂块置根伸长区一侧，根不发生弯曲；B. 将含 $Ca^{2+}$ 琼脂块置根尖一侧，根向这一侧弯曲；C. 将含 EGTA 琼脂块置根尖一侧，根向对侧弯曲。

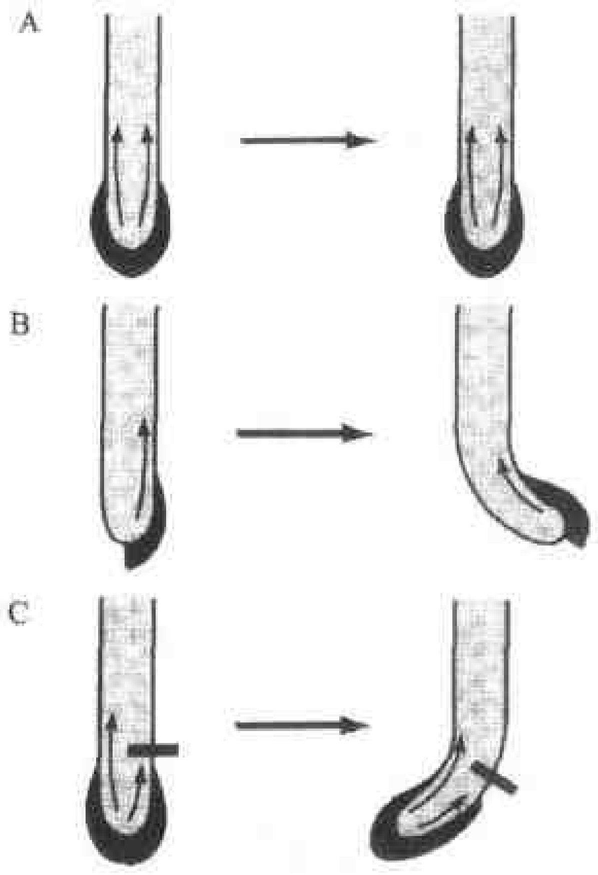



图 14-6　根冠分泌抑制剂对根弯曲的作用，箭头示抑制剂从根冠流向伸长区（Hopkins　1995）

A. 对照根，保留完整根冠，根垂直均匀生长；B. 切去一半根冠，根向留有根冠一侧弯曲；C. 在根一侧插入盖玻片以阻止抑制剂流动，根向另一侧弯曲。

植物激素在向重力性中起什么作用？给根作简单的手术实验：去掉一半根冠的一侧生长较快，根向留有根冠的一侧弯曲；在根的一侧插入一盖玻片，阻止物质上运，则根向对侧弯曲生长，说明有抑制物质积累在水平放置的根的底部抑制生长，而上侧生长，因而根向下弯曲（图 14-6）。开始认为积累的抑制根生长的物质是植物激素脱落酸。但是，实验结果证明，要在很高浓度下，ABA 才能抑制根的生长，用 ABA 生物合成抑制剂抑制根中的 ABA 合成后，根仍然有向重力反应；不能合成 ABA 的玉米突变体幼苗仍具有向重力反应。因此，在根的一侧积累的抑制物质不是 ABA。相反，在去掉根冠的根尖一侧放置一块含 IAA 的琼脂，则根向这一侧弯曲；将标记的 IAA 均匀施用于水平放置的根的各部分，IAA 会向根的下侧聚集，并引起根的向下弯曲。看来，抑制根的一侧生长的物质可能是高浓度的 IAA。编码生长素运输载体的基因突变的拟南芥植株表现根生长对生长素敏感性和重力反应都降低；生长素极性运输抑制剂也使根失去向重力性，说明生长素的运输与向重力性相关。

根对重力感受及传导过程的模型可用图 14-7 概括如下：根直立生长时，茎尖运向根尖的 IAA 在根中均匀分布；当根从垂直方向转到水平方向时，根冠柱细胞中淀粉体向重力方向沉降，对细胞两侧内质网产生不同的压力，刺激 $Ca^{2+}$ 从内质网释放到胞质中，和 CaM 结合，激活质膜 ATPase，使 $Ca^{2+}$

和生长素不均匀分布,下侧积累超最适浓度的生长素抑制根下侧的生长,引起根的向下弯曲。

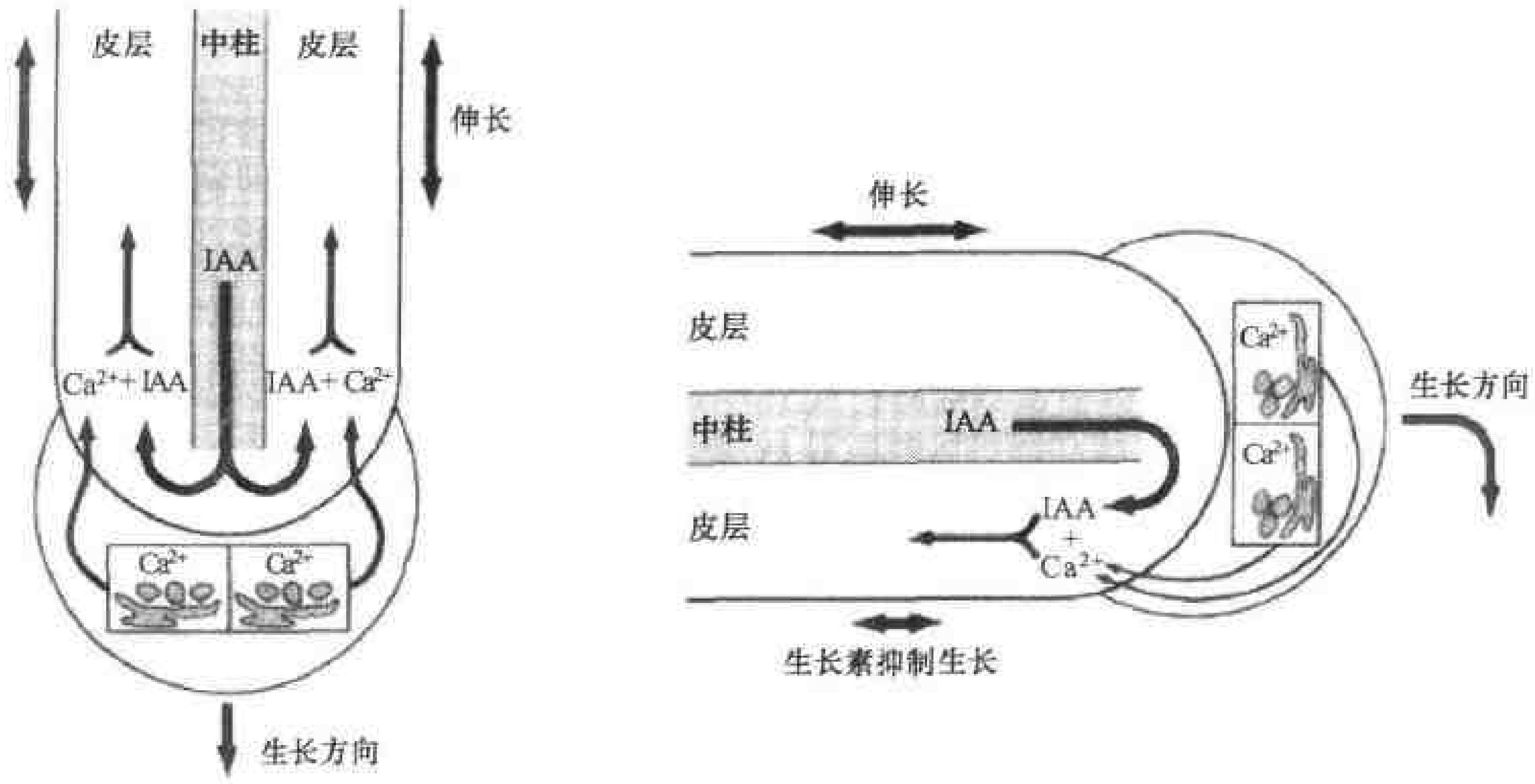



图 14-7　根向重力性的 Evans-Moore 模型(Hopkins　1995)

根处于水平方位时,平衡石位移,而后刺激 $Ca^{2+}$ 流向根下侧,高浓度 $Ca^{2-}$ 导致高浓度 IAA,抑制根下侧伸长。

## (二) 茎和胚芽鞘的负向重力性

植物的茎总是背向重力方向而向上生长,禾本科植物倒伏后,节间基部感受重力,其下侧细胞更多的伸长,而上侧生长基本停止,使茎向上弯曲生长。这种情况下,茎对重力的感受和生长反应在同一部位,解剖观察到茎维管束外侧有 1～2 层含淀粉体的淀粉鞘细胞,可能起感受重力的作用。玉米、燕麦、小麦、大麦等禾本科植物节或叶鞘基部有类似叶枕的组织,叫假叶枕(false pulvinus),这些细胞成熟时,成为薄壁和厚角细胞,是感受重力的部位,下部细胞伸长生长而上部细胞不生长(图 14-8),使茎在感受到重力后 48～72 小时完全直立起来。同时也观察到,在将茎水平放置后 2 分钟内,淀粉体发生沉降,在 15～30 分钟 时就发生弯曲反应;当用 α-淀粉酶处理大麦节部,或将大麦放置黑暗中 5 天,使细胞中淀粉消失,也失去了负向重力性。说明淀粉体也是植物茎负向重力性的感受器。

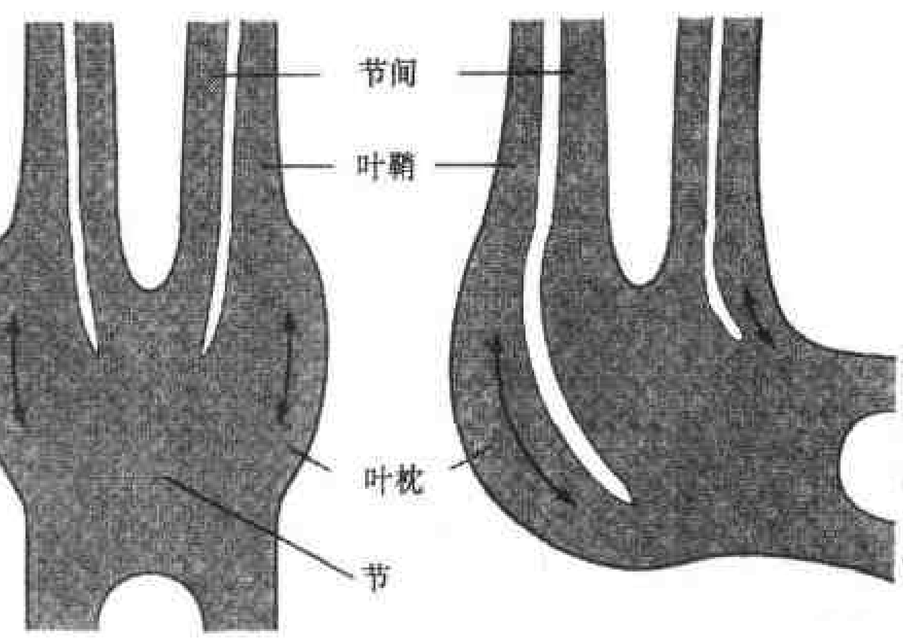



图 14-8　禾草叶鞘基部假叶枕图(Hopkins　1995)

左为茎处于垂直方向,右示茎受到重力刺激。

箭头表示叶枕两侧细胞的相对生长。

在茎的负向重力性中,生长素和 $Ca^{2+}$ 同样起重要作用。去顶的胚轴,即没有了生长素源,失去对重力的感受,再加上 IAA,又可发生弯曲;IAA 运输的抑制剂会抑制对重力的反应,当然,也抑制了生长。是否由于生长素的不均匀分布导致差异生长而引起的弯曲呢?标记 IAA 实验证明茎下侧分布较多的 IAA 而促进生长。但由于检测结果不一致,因而另有推测:重力刺激引起的淀粉体沉降可能改变了组织对 IAA 的敏感性,而进一步导致不均匀生长。

除生长素外,还发现在禾谷类植物的叶鞘中,存在 GA 的浓度梯度,影响细胞的伸长。乙烯也可能抑制水平放置的茎的上部生长,因此,在一定条件下 GA 和乙烯也在向重力反应中起作用。

## 三、其他向性

### （一）向水性和向化性

这是指植物感受环境中化学物质不均匀分布而发生的生长反应。如植物的根系对土壤中的水和肥的分布非常敏感，根系总是朝着潮湿的地方生长，当表层土壤干旱时，根系向土壤深层有水的地方生长，即植物根系的向水性（hydrotropism）。一种豌豆的突变体，失去了向光性和向重力性，但对湿度的梯度却有反应。去掉根冠也几乎完全消除了根的向水性，因此，根对湿度的感受部位也在根冠。同样，根系也总是追逐肥源生长，以获得更多的养料，深层施肥可引导根系向土壤深层生长。高等植物的花粉管生长更表现出明显的向化性（chemotropism），花柱中的化学物质，如 $Ca^{2+}$ 和 IAA 等存在一定的浓度梯度，引导花粉管向着胚珠生长，以准确进入胚囊。

### （二）向触性和接触形态建成

常见的许多攀援植物，如丝瓜、豌豆、葡萄等，它们的卷须一边生长，一边回旋运动，一旦触及物体，接触一侧生长较慢，而另一侧生长较快，则卷须在 5～10 分钟内发生弯曲，缠绕在物体上。这样使植物能更多地接受阳光进行光合作用。这是植物对接触的生长反应，由单方向机械刺激引起的回旋生长运动，被称为向触性（thigmotropism）。向触性反应的可能机理是，这些器官的表皮细胞壁较薄，细胞原生质膜受到机械刺激后，产生动作电位，并迅速传递，影响离子和水的分布而使接触一侧和背侧细胞的膨压发生不同变化而引起不均匀生长，也有认为向触性中的不均匀生长同样是由于生长素的不均匀分布所致。

生长在自然环境中的植物和生长在温室中的植物常有不同的形态建成，自然环境中生长的植物常受到风吹雨淋、物体落下和其他生物的接触等机械刺激，使植物细胞的伸长生长受到抑制，而植株长得较为粗壮，有相对发达的厚角组织和厚壁组织，这就是所谓的接触形态建成（thigmomorphogenesis）。每天给番茄植株喷洒 10 秒钟水，和对照相比，生长被控制了 60%。植物激素乙烯可能介入接触形态建成的控制，接触刺激使生长素的运输也受到抑制，GA 活性减少；$Ca^{2+}$ 也参与这种控制。有观察到在接触刺激的几秒钟内，豆茎的电阻发生变化，说明膜透性变化，离子迅速转移，膜透性的变化会影响激素的亚细胞水平分布而调节生长。在这种形态建成过程中，还包括了接触诱导基因（touch gene）的表达，Janet Braam 和 Ronald W. Davis（1990）发现，拟南芥在被用喷水或其他机械刺激的 10～30分钟后，这些基因表达产生的 mRNA 可增加 10%～100%，已知其中之一是钙结合蛋白的 mRNA，其他还有两种相关的蛋白质。细胞内 $Ca^{2+}$ 水平也增加，所以可能 $Ca^{2+}$ 和 CaM 是基因活化的第二信使。

# 第二节　感性运动

植物的感性运动（nastic movement）也是对环境刺激的反应，与向性运动不同的是它与刺激的方向无关，多数是在特殊结构部位，细胞膨压发生变化，属于膨压运动（turgor movement）；但也有生长运动。按照刺激的性质可分为感震性（seismonasty）、感夜性（ nyctinasty）和感温性（thermonasty）。

## 一、感　震　性

感震性是由机械刺激引起的运动。最常见的是含羞草叶片的运动，在感受轻微刺激的几秒钟内，叶枕和小叶基部细胞膨压变化，使叶柄下垂，小叶依次闭合。刺激含羞草的小叶时，发生动作的部位

是叶柄基部的叶枕，其间必定经过一段距离的信号传递，一种可能的机制是：感受刺激的细胞兴奋，引发动作电位，经维管束传递，传递速度可达 2cm/s，信号到达叶枕细胞，$H^+$ 被快速吸收导致膜电位变化而调节离子通道状态，细胞内的 $K^+$ 和糖快速流出到质外体，水分流出，细胞膨压变化而萎缩，叶柄和小叶下垂闭合。植物的感震性刺激传导和动物的神经传导类似：同样是快速反应，如食虫植物捕蝇草的动作电波传递在 1 秒内即完成；具有全或无的特征，刺激强度和反应之间没有明显的关系；通过动作电波从刺激部位传递兴奋性。另一种机制可能是经化学物质传递信号，从含羞草、合欢等植物中提取出一类物质，能改变含羞草叶枕细胞的膨压，使叶片发生运动，目前将这类物质称为膨压素（turgorin）。

## 二、感 夜 性

感夜性指植物接受光暗变化信号，引起叶片的开合运动。如大豆、花生、四季豆、合欢等豆科植物的叶片，白天呈水平展开，夜间合拢或下垂(图 14-9)。

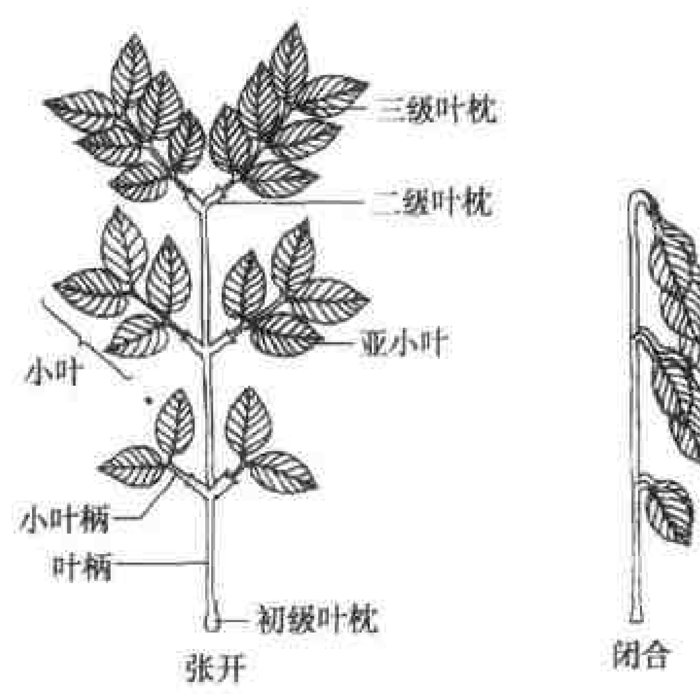



图 14-9 合欢叶片的昼开夜合
(Salisbury & Ross 1992)

这种运动是被环境信号和植物内源的生物钟相互作用所控制的。这类植物叶柄基部的叶枕有 10～20 层皮层薄壁细胞，这些细胞发生可逆的膨压变化时，体积和形状发生变化，这些细胞被称为运动细胞（motor cell）。叶柄腹侧是可屈曲的区域，而背侧是可伸展的区域，在叶片平展时背侧细胞膨压增加而叶片闭合时膨压下降；腹侧细胞正相反，在叶片平展时膨压下降而闭合时膨压上升。细胞的体积变化是由渗透性吸水或失水引起的，观察到伴随细胞膨胀有 $H^+$ 的分泌，质外体 pH 下降，$K^+$ 和 $Cl^-$ 进入细胞。目前提出的可能机制是：细胞受光的刺激而 ATPase 质子泵活化，背侧的运动细胞泵出 $H^+$，建立跨膜的电化学势梯度，驱动对 $K^+$ 和 $Cl^-$ 的吸收，并产生部分有机酸来平衡电荷，细胞渗透势下降，使水分流入，运动细胞膨胀而叶片展开；$K^+$ 在背、腹两侧细胞之间再分配，因而另一侧运动细胞 $K^+$ 流出，水分丢失而曲缩。在白天，蓝光和远红光能使闭合的叶片展开，由光敏色素和蓝光受体接受光变化的信号。由于是近似 24 小时的周期，所以必然也有生物钟参加控制。

## 三、感 温 性

由温度变化引起器官两侧不均匀生长的运动称感温性。如郁金香和番红花的花，通常在白天温度升高时，适于花瓣的内侧生长，而外侧生长很少，花朵开放；夜晚温度降低时，花瓣外侧生长而使花闭合，这样，随每天内外侧的昼夜生长，花朵增大。适合的温差约 10℃左右。光对其影响很小，主要是花瓣上、下表面对温度的反应不同而引起的差异生长。

# 第三节 细胞质运动和细胞器的运动

运动是生命的特征，植物的生活细胞原生质和细胞器无时无刻不在进行着各种形式的运动。细胞中的细胞质流动（cytoplasmic streaming）也是多种多样的：如胞质中的颗粒表现不连续的跳跃式运动、或同一细胞质束中颗粒的相反方向运动；细胞质沿细胞周围环流等。花粉管中常可见到细胞质由中央向四周或四周向中央的喷泉式流动。

## 一、细胞质流动

研究植物的细胞质流动最好的材料是藻类，如丽藻和轮藻，它们的节间细胞可长达2～5cm，细胞质围绕中央大液泡环流。液泡周围的原生质分两层，外层凝胶状部分基本不动，叶绿体排列在其中，另一层溶胶状的原生质不断地运动，内外两层交界处存在着肌动蛋白微丝束，肌动蛋白和肌球蛋白的相互作用推动细胞质流动。像这种藻类，细胞较大，必须靠细胞质的不断流动来完成物质的运输，这是维持其生命活动所必需的。

高等植物的花粉萌发时，生长的花粉管中细胞质环流和细胞器运动非常活跃。花粉管中的内质网和高尔基体合成和转换迅速，将大量的膜材料和壁物质装入囊泡，运送到花粉管顶端，供花粉管生长所需。同时，花粉管中的细胞质的喷泉式的运动对物质的运输也十分有效。经免疫荧光观察证明在花粉管中存在肌动蛋白微丝束和肌球蛋白，与动物骨骼肌的肌动蛋白和肌球蛋白有相似的结构和ATP酶活性特征。这种细胞质流动也是由组成微丝的肌动蛋白和肌球蛋白相互作用产生动力所推动的。其他如紫露草雄蕊毛细胞、洋葱鳞茎内表皮细胞、根毛细胞等都存在旺盛的细胞质流动。

花粉管细胞质流动受钙离子的调节，用螯合钙的抗菌素——氯四环素和钙-钙调素复合物的抑制剂——氯丙嗪都能抑制花粉管中细胞质流动。

## 二、细胞器运动

细胞内的一些细胞器可以不同的方式运动，如花粉管中细胞器和细胞质一起环流或穿梭运动，某些藻类细胞中叶绿体的趋向运动，线粒体、高尔基囊泡、内质网等都可运动。电镜观察到线粒体和叶绿体等细胞器有和微管结合的位点，可以微管作为轨道而运动，细胞器沿微管的运动可以是双向的或成串的，用微管解聚剂处理时，随微管解聚，细胞器的运动也被抑制。微丝的抑制剂细胞松弛素B也使细胞器运动停止，组成微丝的肌球蛋白和肌动蛋白的微丝束之间相互作用产生动力，推动细胞器运动。这说明细胞器的运动是与微管和微丝等细胞骨架紧密相关的。

某些藻类细胞的叶绿体随光照方向运动。如每一个转板藻细胞仅含一个扁平叶绿体，在光较弱时，叶绿体面向照光方向以接受更多的光，而在光强时，叶绿体侧向光以避免过强光的伤害。而且这种运动是红光/远红光可逆诱导的，说明光敏色素介入叶绿体对光的感受。

# 第四节　生物钟——生命的内源节奏

## 一、生命的节律现象

在古代人们就注意到许多植物的叶片有就眠运动，如菜豆的叶片在白天呈水平位置，而夜晚下垂。这种生命的节律现象普遍存在于生物界，包括植物、动物和人类。在植物中，如小球藻的细胞分裂在近黎明时出现高峰；许多藻类和真菌的孢子的成熟和散布、高等植物的气孔开闭、细胞分裂、光合作用$CO_2$同化和呼吸代谢、单子叶植物胚芽鞘的生长速度以及双子叶植物下胚轴的生长等都有节奏性的变化(表14-1)。重要的是，这种节奏与地球上的光、温度昼夜变化协调，如菜豆初生叶叶片在白天呈水平状态利于有效地吸收光能，而夜间下垂被认为有利于适当保温或减少蒸腾，适应光和温度昼夜变化的环境(图14-10)。又如一些花的开放和昆虫的活动协调一致而有利于传粉等节奏表现，对植物的生命活动具有重要意义。而我们在做研究时，也应考虑到植物的这种自身的节奏性变化来决定实验处理的时间。

在20世纪30年代德国的E. Bunning和K. Sterrn用记纹鼓记录了菜豆叶片昼夜运动的现象，称这种有规律的变化为生物钟(biological clock)。后来发现，在黑暗中或在连续弱光下，叶片开合的

节奏周期不是准确的 24 小时，而是在 20～28 小时之间，接近 24 小时，因此，又称为近似昼夜节奏(circadian rhythum)。

表 14-1　高等植物的某些近似昼夜节奏现象(Hopkins　1995)

| 节　奏 | 植　物 |
|---|---|
| 叶片就眠运动 | 豆科等许多植物 |
| 气孔的昼开夜合 | 烟草、蚕豆、香蕉 |
| 茎生长 | 番茄、藜 |
| $CO_2$ 释放 | 兰花 |
| 气体吸收 | 丁洋葱种子 |
| 膜电势 | 菠菜叶片 |
| mRNA 表达 | 豌豆 |

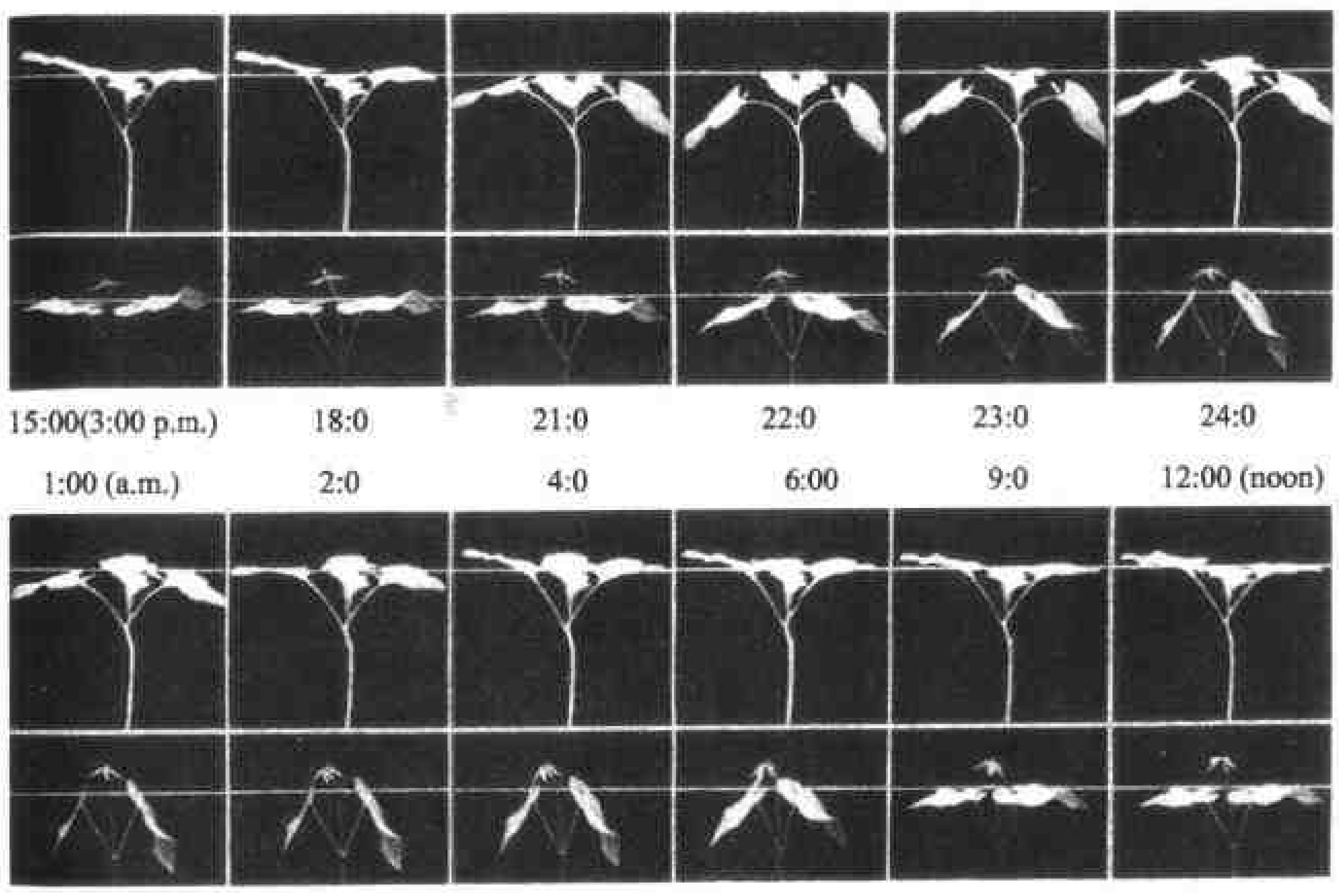



图 14-10　苍耳(上)和(菜豆)叶片的昼夜节奏性运动(Salisbury & Ross　1992)

## 二、近似昼夜节奏的一般特征

### (一) 内源节奏，自由运转

在连续光照或连续黑暗条件下和恒温条件下，菜豆等植物的叶片就眠运动也可维持几个昼夜的周期性变化，人们称之为自由运转(free running)。拟南芥叶片运动节奏在稳衡弱光下可维持 12 天之久，可知这是一种植物自身内源性的节奏，是存在于体内的生物钟。

### (二) 周期和振幅

完成一个循环的时间长度，或在重复的周期上两个同位点之间的特定时间称为节奏的周期(period)。振幅(amplitude)指所观察的反应的变动幅度，如叶片的最高水平位置到下垂的最低位置之间的变化幅度(图 14-11)。在稳恒条件下，生物钟的周期长度并不是准确的 24 小时，如菜豆叶片在连续弱光下的运动周期为 27 小时，燕麦胚芽鞘生长速率的节奏为 23.3 小时。这种周期可以连续运转几个循环，以后振幅逐渐减弱至消失，并不是生物钟消失了，而可能是钟和生理功能之间的联系受到影响，如给予光信号或改变温度等，就可重新启动节奏。周期的形式也各有不同，并不都是平滑的正弦曲线，有的峰尖较锐，有的较平缓，有的也不完全对称。

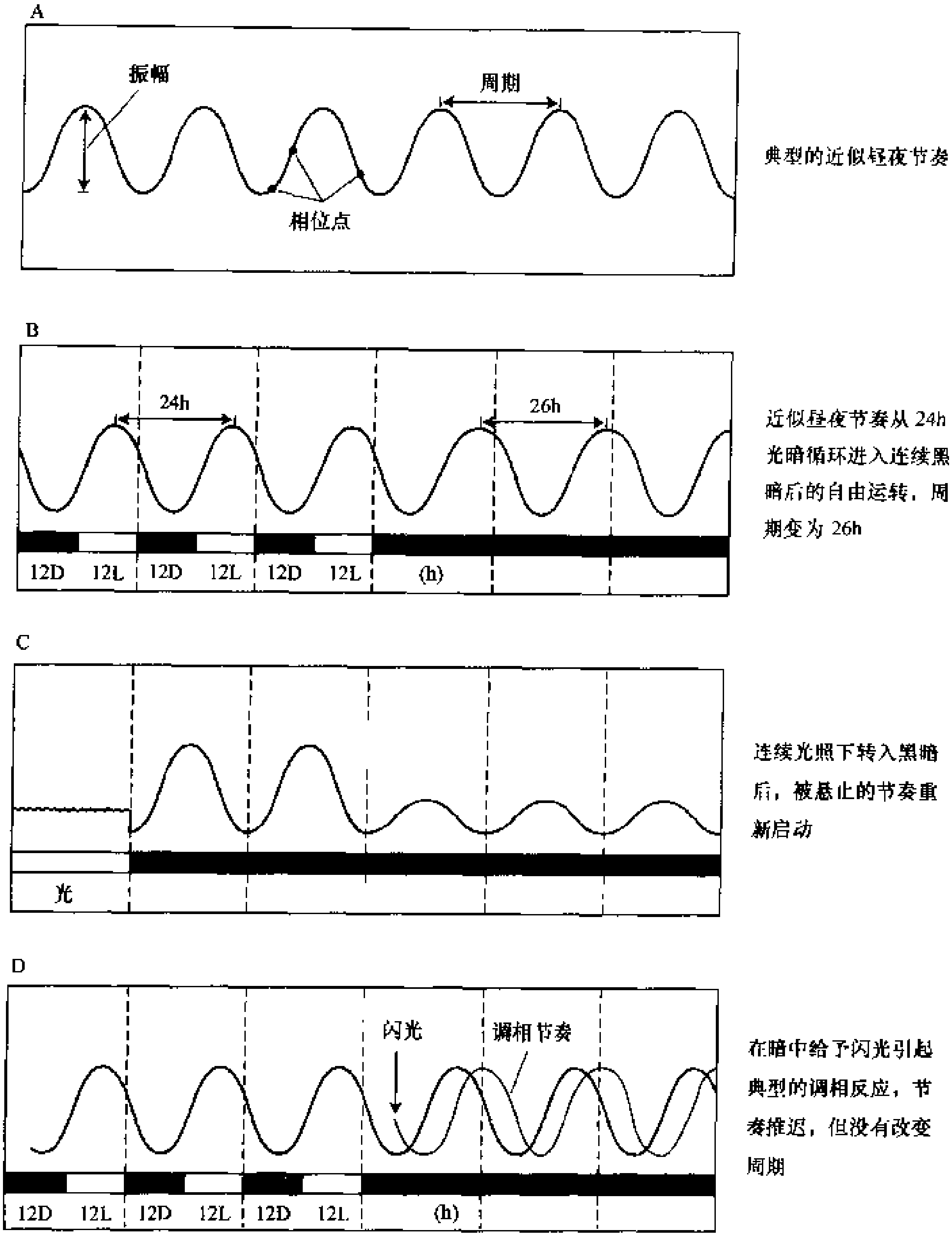



图 14-11 近似昼夜节奏的某些特征(Taiz & Zeiger 1998)

## (三) 重拨和调相

在自然界生长的植物，许多生命活动是和环境的昼夜变化相适应的。内源节奏最为重要的特征是其可诱导性，即受到外界环境条件的诱导和约束，自然界决定于地球自转的昼夜变化把近似昼夜节奏约束在 24 小时，使其和自然界的节奏变化同步。像我们拨准时钟一样，生物钟也需重拨和约束，否则，经过几个周期后就会和昼夜的 24 小时错位，经实验证明每天校正的信号主要是光，即以黎明或黄昏的光暗变化作为信号。温度的昼夜变化也可起一定的作用。这些信号可称为内源节奏的同步器(zeitgeber)。如果缩短或延长环境周期，植物的节奏也会发生相位移动，而和新的周期同步。相位移动使植物能将生命活动的节奏调节至适应新的环境昼夜循环的变化。但将植株放回到稳恒条件下

时，节奏又会恢复到原来的周期与自由运转状态。因此，虽然近似昼夜节奏是内生的，但保证其正常的运转却要求环境信号的不断刺激诱导。

## 三、内源节奏对环境信号的反应

光起启动和校正生物钟的作用。在自然环境的白天，用闪光处理处于稳恒弱光下的植物，对其节奏的相位几乎没有影响，如果在黑夜初期闪光，似乎给了植物一个黄昏的信号，就会使节奏推迟；但如果在黑夜末期给予闪光，就像黎明信号一样使节奏的下一个峰提前。甚至在连续的黑暗和恒温条件下，用两个短暂的光中断处理（仅几分钟至一小时），一个闪光在光期开始时，另一个在光期末尾时，也就是只给予了黎明和黄昏的光信号，这是所谓的轮廓光周期（skeleton photoperiod），结果，处理和对照植物的节奏是完全相同的。这非常好地说明了植物是通过感知黎明和黄昏的光暗转变信号来校正其内源节奏的。由此，植物能感知在季节变化周期中，日照长度有规律的变化，识别一年的时间进程，作出相应的反应，如从营养生长转变为适于开花的节奏程序；秋季日照逐渐缩短时，从旺盛的生长转向休眠等。

内源节奏对温度不甚敏感。多数生化反应受温度影响，温度系数 $Q_{10}$ 在 2 左右，这种对温度的敏感性对生物是有利的，在温度适宜时，代谢活动旺盛，正常生长；在温度变化较大时，及时地调节，避免受到伤害。但生物钟如果对环境温度波动太敏感，就可能使植物受到太严重的干扰而造成生命活动的紊乱。实验证明内源节奏的周期长度对温度相对不敏感，其温度系数通常为 0.8～1.4，暗示它不是以化学变化为基础的。但节奏的振幅可能受温度的影响。

生物的内源节奏是否受化学物质的影响？呼吸抑制剂似乎不影响节奏的周期，但能影响振幅，去抑制剂后，节奏又可恢复正常。但也有报道，像秋水仙碱、乙醚、酒精等化学抑制剂作用于菜豆，仅稍微延长周期而对振幅影响较小。化学物质对内源节奏的影响及其机制仍不清楚，也可能与影响了细胞膜透性、离子运输及蛋白质合成等其他生理过程有关。

## 四、对生物钟机制的研究

曾有一种对生物钟机制的解释：细胞内某种物质 X（也许是 $K^+$），向某一细胞器内主动运输，当 X 的浓度达到一临界值时停止向内运输，而开始向外渗漏，直到一最低阈值后再启动运入过程。光的作用可能是影响膜的透性，进而影响渗漏速度，在较高温度下，渗漏也会加快，因而影响节奏（Sweeney 1987）。

根据近些年的研究进展，Carre 和 Kay（1996）提出，一个内源节奏系统应包括：①一个中心振荡器（central oscillator），用以控制循环相位、周期长度和振幅；②光或温度等环境信号输入途径（input pathway），如光敏色素或隐花色素作为光受体接受光的信号；③引起生物反应的信号输出途径（output pathway），将节奏钟的信息和生理过程联系起来。这些过程包括基因转录和翻译、酶的形成与活性调节、膜透性变化、细胞分裂、离子通道的调节等。

接受光信号的受体可能是光敏色素或隐花色素，一些豆科植物叶片的昼夜节奏性运动对红光敏感；在稳恒弱光下，拟南芥叶片运动的节奏可维持 12 天，用红光闪光可启动节奏或引起相位移。单细胞漆沟藻的生物发光节奏反应是对蓝光敏感的，气孔运动的内源节奏也是蓝光反应，可由隐花色素作为光受体。拟南芥缺乏光敏色素的突变体或缺乏隐花色素的突变体就失去了对红光或蓝光的敏感性，而节奏减弱。许多证据表明动物和植物的内源节奏系统中都存在隐花色素，说明内源节奏的输入途径在进化中是较为保守的（Somers et al. 1998）。还观察到豆科植物叶片节奏运动中，红光信号引起磷酸肌醇转换和胞质 $Ca^{2+}$ 的瞬时变化，说明有第二信使系统介导其信号转导过程。

突变体的筛选和应用为研究生物钟的机制提供了有效的途径。已鉴定了链孢霉和果蝇的多种生

物钟突变体，在高等植物拟南芥的 *CAB* 基因（叶绿素 a / b 结合蛋白基因）的启动子区嵌入虫萤光素酶基因作为报告基因，用生物发光节奏作为标记，筛选了 *CAB* 基因表达周期变化或改变了表达量等多种突变体，用以研究 *CAB* 基因表达的节奏控制，为研究生物钟机制提供了新的分子遗传学手段。

植物有不止一种节奏现象同时存在，每一植物存在多少节奏钟？控制系统存在于什么地方？拟南芥的一种短生长周期的突变体 *toc1*，叶片运动的节奏周期也缩短，推测其 *CAB* 基因表达和叶片运动这两种不同反应的节奏中心控制系统可能相同，但由不同的输出信号来区别，而引起不同的反应，或不同类型细胞有特殊的调节方式。气孔运动和光合作用节奏周期一般为 24 小时，但叶片运动自由运转的周期是 27 小时，一种解释是存在不同的中心振荡器控制不同的反应，一种可能是气孔保卫细胞和叶枕细胞感受光的输入途径不同或有不同的输出途径。一般认为控制系统应存在于膜上，但需要得到直接的证据。

## 小　　结

植物虽然不能像动物那样随意移动，但植物的某些器官接受环境刺激，也能有局部的运动。重要的一类运动是向性运动，包括向光性、向重力性、向化性和向触性。这类运动是植物的某部位接受环境刺激后，经过一系列信号传递，引起不均匀生长的结果，其运动的方向取决于刺激的方向，可以是正向的和负向的运动。感性运动的方向与刺激的方向无关，有些也是生长运动，但多数是膨压运动。生活细胞内的原生质和细胞器的运动是生物的重要特征，对于传递信息和运输物质，或调节生理活动都是十分重要的。从分子水平上揭示细胞运动的机理对认识生命活动本质有重要意义。所有生物的行为都表现出一定的节律性，在植物体内存在着生物钟。植物内生的近似昼夜节奏能被光等环境信号启动、校准或调节相位，使植物的生命活动与环境条件相适应。

**思考题**

(1) 名词解释：向性运动，向光性和向重力性，感性运动，生物钟和近似昼夜节奏。

(2) 举例说明植物运动对植物生命活动的意义。

(3) 植物向性运动的主要特点是什么？用实验证明植物接受光信号和发生反应的部位。

(4) 试述植物向光性和向重力性运动的可能机理。

(5) 列举说明淀粉体是植物根中的重力感受器的证据。

(6) 讨论植物激素和植物运动的关系。

(7) 设计实验证明 $Ca^{2+}$ 参与了根的向重力性运动信号传递。

(8) 什么是生物钟？其特点和意义是什么？

# 第十五章　植物的光控发育

光在生命的发生上、在生物界的物质代谢和能量代谢系统的进化上都起着极其重要的作用。光是植物和其他一切生物赖以生存的能量来源，绿色植物通过光合作用利用光能将无机物同化为有机物，以化学能形式贮存能量，为所有生物所利用；同时，光是最重要的环境因子之一，在植物发育过程中，扮演另一个重要的角色，作为一种环境信号参与调控植物的整个发育过程，从种子萌发、幼苗生长到植物的生殖、衰老和休眠的各个阶段，从基因表达的分子水平到器官建成，光无所不在地起着信号开关的作用，使植物获得最大的生存和繁衍优势。

## 第一节　植物光形态建成

黑暗中生长的双子叶植物幼苗的下胚轴伸长、茎细长柔弱、顶端弯勾不伸直、叶片小且不扩展、缺乏叶绿素而呈白色或黄色，叶绿体发育不正常，许多酶的活性也低；黑暗中生长的单子叶植物上胚轴或第一节间特别长、叶片卷紧不伸展。这是所谓的暗形态建成(skotomorphogenesis)，或称黄化现象(etiolation)。而在光下生长的植物，下胚轴弯钩伸直、叶片展开、叶绿体发育完善、合成叶绿素、叶片转绿，能正常进行光合作用以获得碳素和能量，使植物生长正常而强壮(图 15-1)。和光合作用相比，这是一种低能量反应，只需较弱的、短时间的光照，通过对膜功能的影响、诱导基因表达等一系列细胞反应，就能导致明显的细胞分化、结构和功能的变化、表现于组织和器官建成等形态变化，这就是植物的光形态建成(photomorphogenesis)，亦称光控发育作用。

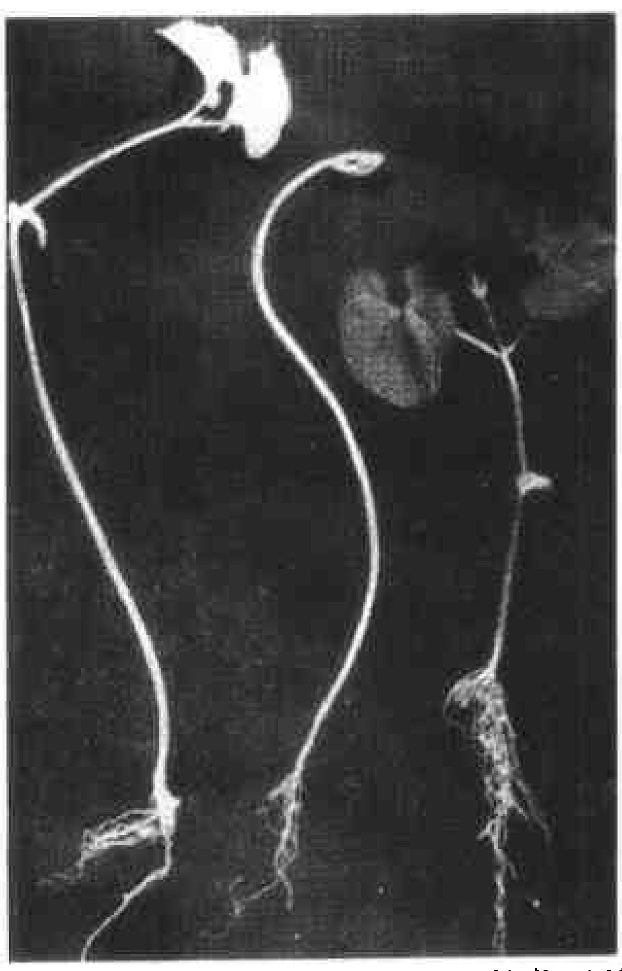


图 15-1　不同光条件下生长 6 天的菜豆幼苗
(Taiz & Zeiger　1998)
与在连续白光下正常生长的幼苗(右)相比，每天 5 分钟弱红光(左)即可部分消除在完全黑暗下生长的幼苗叶片小、维持顶端弯钩等黄化现象(中)。

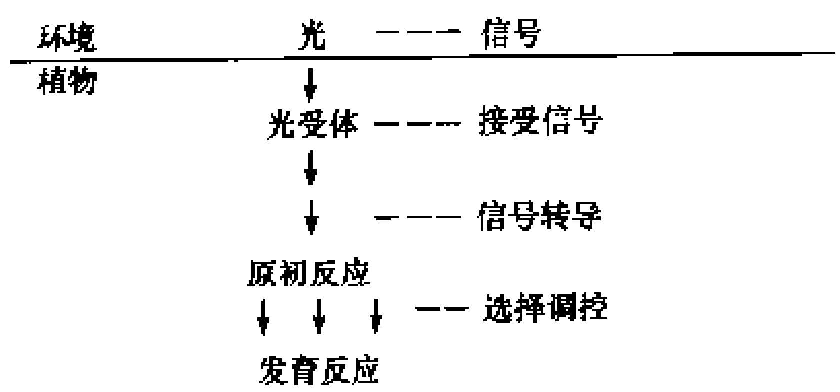



图 15-2　植物光形态建成过程示意图

为什么在光下和在暗中生长的植物有不同的形态？植物怎样感知光的信号？如何将光信号转换为生理反应？光形态建成的主要过程可概括如图 15-2。首先由植物细胞中的光受体接受环境中的光信号，而后通过胞内信使的传导，引起级联反应，最终表现为发育的光形态建成。

## 一、植物的光受体

动物通过视觉器官感知光，并通过神经传递光的信息。在进化过程中，高等植物也发展了极其精细的光信号接受系统和信号传导系统，能对光的有无、光的波长、光强的变化、光照持续时间以及光的空间对称性等作出适当的反应。根据最有效的吸收光谱和作用光谱区域，目前所知植物的光受体(photoreceptor)包括三类：光敏色素(phytochrome)，接收红光和远红光信号；隐花色素或称蓝光 / 紫外光-A 受体(cryptochrome 或 blue / UV-A receptor)，接收蓝光和 330～390nm 的紫外光；紫外光-B 受体(UV-B receptor)，接收 280～320nm 的紫外光。与植物细胞中通常含有的叶绿素和类胡萝卜素等大量的色素相比，这些光受体色素是微量的，但是它们对外界光环境变化非常敏感，它们能感受比光合作用有效光范围波长更宽的光，包括紫外光到远红光，分别接受光质、光量、光照时间和光照方向的变化，经过信号转换、传递、放大和选择调控，引起不同的反应，使植物适应光环境的变化，完成正常的发育过程。

## 二、光敏色素

### (一) 光敏色素的基本性质

**1. 光敏色素的发现和在植物组织中的分布**

早在 20 世纪初，德国的植物生理学家 Sachs 就观察并描述了暗中生长幼苗的黄化现象，并用实验证明这是区别于光合作用的形态建成。1920 年美国农业部贝尔茨维尔研究中心的 Garner 和 Allard 发现了日照长度控制植物的开花，从此他们开始研究光对植物生长发育的各种影响，用大型光谱仪将白光分成单色光，对多种植物进行试验，在 1952 年报道了莴苣种子需光萌发的试验结果：红光促进种子萌发，而远红光可逆转红光的作用，当反复照射红光和远红光时，种子是否萌发则取决于最后一次照射的是红光还是远红光(表 15-1)。

1959 年该研究所的 Bulter 等用双波长分光光度计检测到黄化芜箐子叶和黄化玉米幼苗体内存在一种吸收红光和远红光、而且可互相转化的色素，经提取发现是一种色素蛋白。1960 年，他们将这种色素蛋白命名为光敏色素。光敏色素的发现是 20 世纪植物科学中的重要成就，是植物光形态建成研究中的一个里程碑。

**表 15-1　红光、远红光对莴苣种子萌发的影响** (Borthwick　1952)

| 处理 | 种子萌发率/% |
|---|---|
| D | 8 |
| R | 98 |
| R+FR | 54 |
| R+FR+R | 100 |
| R+FR+R+FR | 43 |
| R+FR+R+FR+R | 99 |
| R+FR+R+FR+R+FR | 54 |
| R+FR+R+FR+R+FR+R | 98 |

光敏色素广泛地分布在藻类、苔藓、地衣、蕨类、裸子植物和被子植物中。在高等植物中，已从根、胚芽鞘、下胚轴、茎、子叶、叶柄、叶片、营养芽、花、种子和正在发育的果实中检测到光敏色素。但是其在不同组织中的分布是不均匀的(图 15-3)，在分生组织和幼嫩器官中含量较高。在亚细胞水平上，光敏色素主要存在于细胞质膜、线粒体、质体、核膜、内质网和细胞质中。通常黄化幼苗中光敏色素的含量比绿色组织中高几十倍，在黄化组织中，光敏色素多分布在膜系统上，而照射红光后，多分散在细胞中的各个部分。

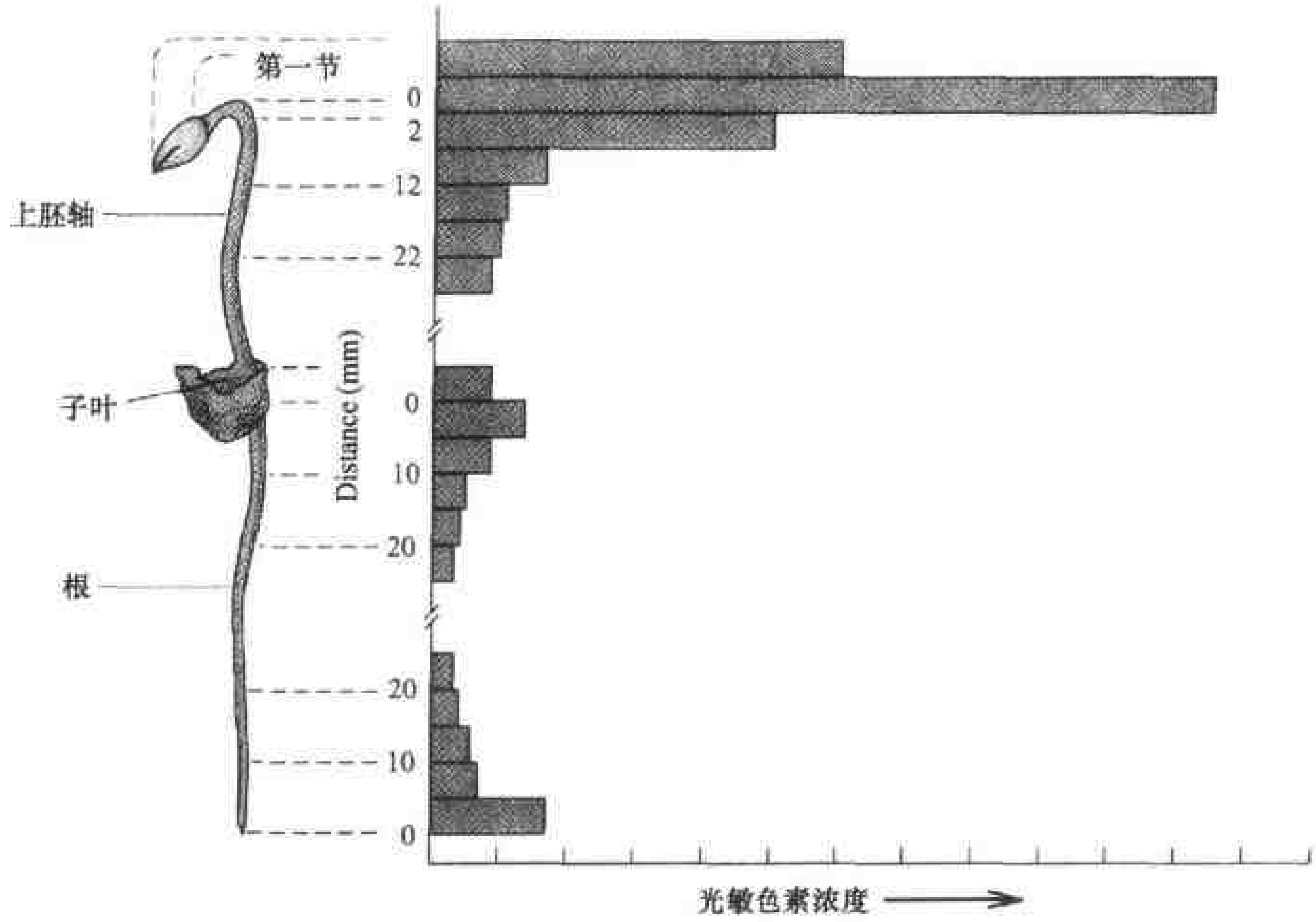



图 15-3 光敏色素在黄化豌豆幼苗中的分布(Taiz & Zeiger 1998)
光敏色素集中分布在上胚轴和根尖端分生组织，即发生显著发育变化的部位。

## 2. 光敏色素的性质

(1)基本结构 光敏色素是一种易溶于水的浅蓝色的色素蛋白，由发色团(chromophore)和蛋白质(脱辅基蛋白，apoprotein)两部分组成。其脱辅基蛋白由核基因编码，在胞质中合成，而发色团在质体中合成后，运出到胞质中，二者自动装配成光敏色素蛋白(图 15-4)。光敏色素发色团是一个开链的四吡咯环结构化合物，分子质量约为 612Da；光敏色素的脱辅基蛋白单体分子质量在 120～127kDa

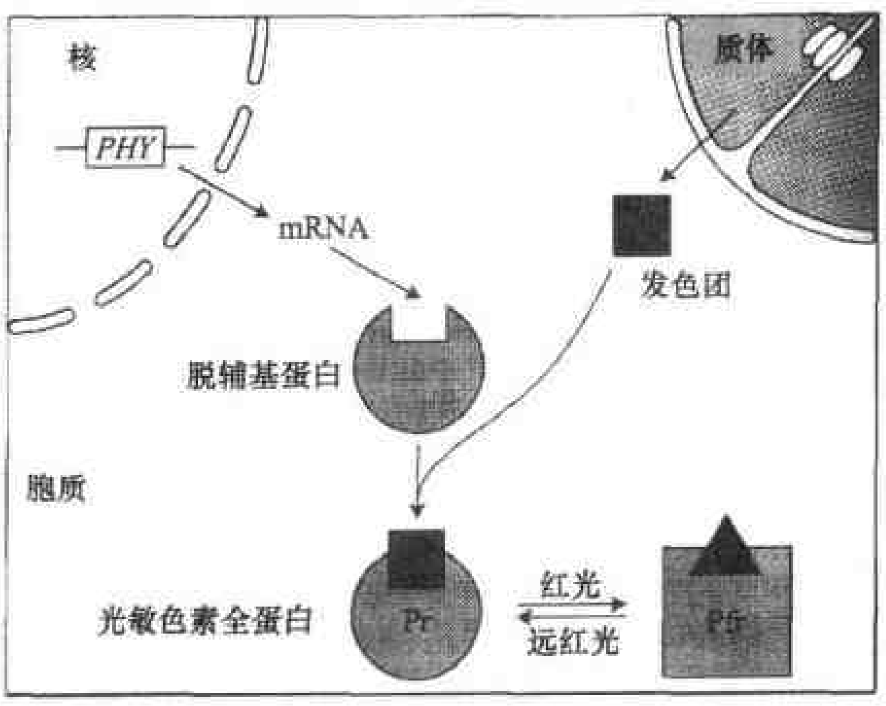



图 15-4 光敏色素的合成(Taiz & Zeiger 1998)
在质体中合成光敏色素发色团，进入胞质与脱辅基蛋白装配成为光敏色素全蛋白。

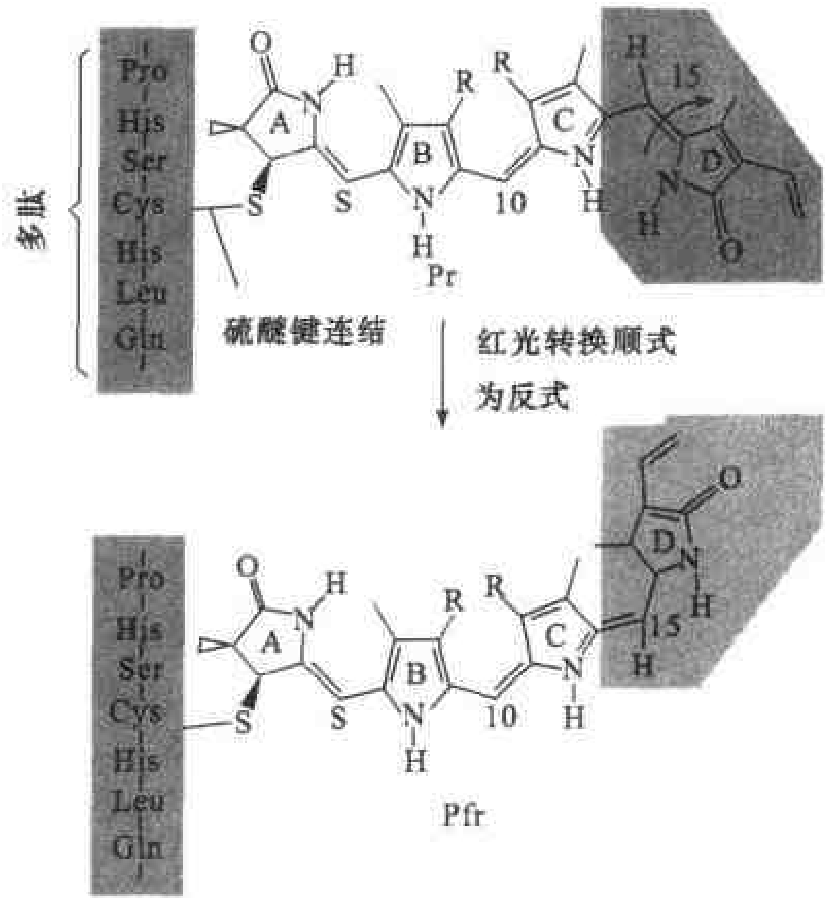



图 15-5 光敏色素发色团的结构及经硫醚键结合多肽的区域(Taiz & Zeiger 1998)
红光和远红光使发色团 15 位 C 发生顺式与反式异构体转换。

之间，已知燕麦光敏色素蛋白质由1128个氨基酸残基组成，并确定了排列顺序，其N端第321位的半胱氨酸以硫醚键与发色团A环上的烯双键共价联接而形成完整的光敏色素（图15-5）。对光敏色素的四级结构分析表明，在生理条件下形成二聚体，单体或二聚体的形状都接近椭圆形。

光敏色素有两种可以互相转化的构象形式：红光吸收型Pr和远红光吸收型Pfr。它们的光谱性质是由发色团和脱辅基蛋白相互作用的结果。普遍认为，Pr型是光敏色素的钝化形式，呈蓝绿色；而Pfr型是光敏色素的生理活跃形式，呈黄绿色。照射白光或红光后，Pr型转化为Pfr型；相反，照射远红光使Pfr型转化为Pr型。在两种形式发生光转换时，发色团电子状态发生变化，双键位置转移，与发色团结合的蛋白质部位的构型也发生相应的变化，发色团在蛋白质中也发生了移动。Pfr的蛋白质分子表面比Pr暴露得更多、疏水性更强，使Pfr分子更易与其他分子发生作用，这可能是二者不同生理活性的分子基础。

（2）吸收光谱和光平衡　各种色素由其分子结构决定，具有特殊的吸收光谱图谱。从燕麦黄化幼苗中分离的光敏色素的吸收光谱如图15-6，可见光敏色素的Pr型在660～665nm处有最大吸收，而光敏色素Pfr型在725～730nm处有最大吸收。两种形式在蓝光区均有一小的吸收峰，但它们几乎不吸收绿光，所以，绿光常作为研究光敏色素时的安全光。

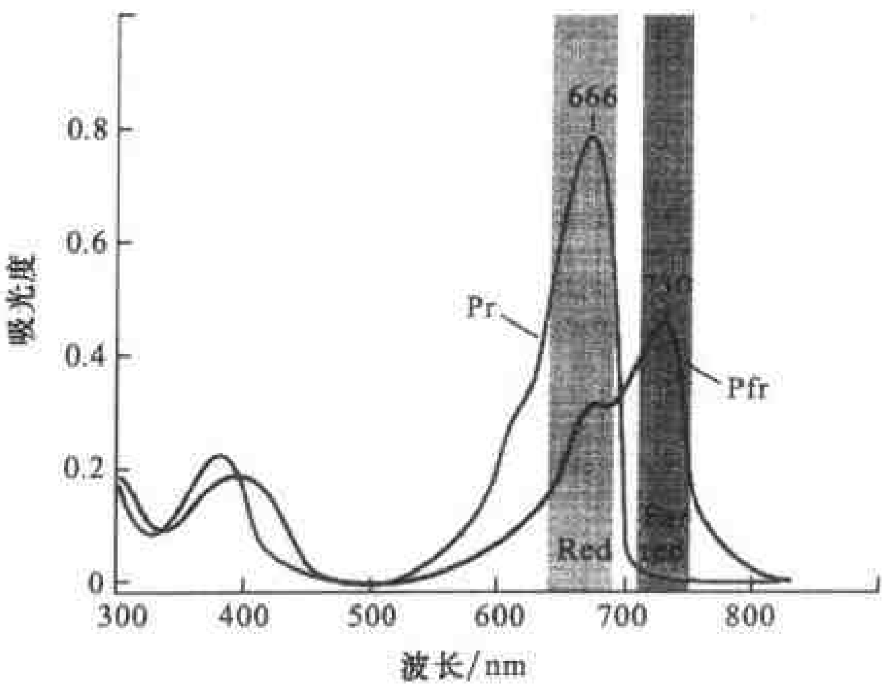


图15-6　光敏色素Pr与Pfr吸收光谱图
（Taiz & Zeiger　1998）

从光敏色素吸收光谱图中还可以看到，光敏色素两种形式的吸收光谱在可见光波段有相当多的重叠。由此可知，在自然条件的连续光照下生长的植物体内同时存在光敏色素的Pr和Pfr两种形式。在饱和光照条件下建立的这种平衡就是光敏色素的光稳态平衡（photostationary equilibrium）。通常将生理活跃型Pfr在光敏色素总量中所占的比例Pfr / Ptot称为光稳态平衡值φ。在饱和红光（660nm）下建立的φ约为0.8，而在718nm的远红光照射下建立的φ约为0.025。

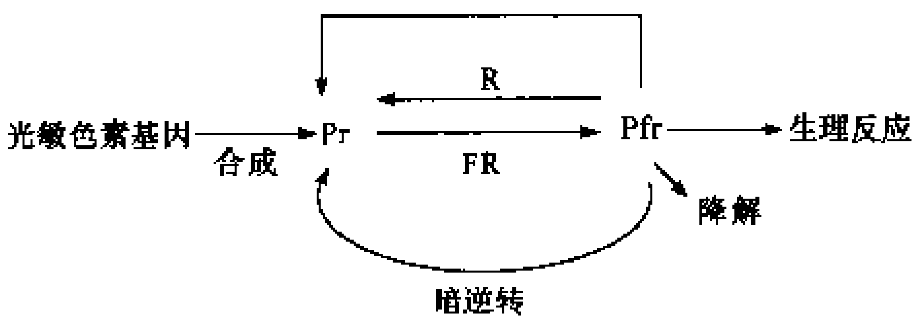


图15-7　光敏色素代谢和光转换

（3）代谢　黑暗中生长的幼苗合成光敏色素Pr型，光下转换为Pfr型，但Pfr型不稳定，在光下大量降解，达到一新的稳定状态。光敏色素Pfr型在暗中又可自发地逆转为Pr型，其逆转速率较光转换速率慢，受温度、pH和化学物质等的影响，较高的温度和较低pH加快暗逆转，一些还原剂可在以秒计的时间中大大加速暗逆转的进行。综上所述，植物体内生理活跃型光敏色素水平为合成速率、两种形式的互相转换速率、Pfr的暗逆转和降解速率等决定，如图15-7所示。

**3. 光敏色素类型及其基因**

由于黄化组织中光敏色素含量高，用分光光度法测定时不受叶绿素的干扰，所以大量用黄化组织来提取光敏色素进行研究，但在20世纪80年代用免疫方法测定绿色组织中的光敏色素时，发现与黄化组织中的光敏色素有所不同。一般将在黄化组织中主要存在的光敏色素称为类型I光敏色素（type I phytochrome, PI），而在光下生长的绿色组织中存在的光敏色素称为类型II光敏色素（type Ⅱ phytochrome, PII）。燕麦中PI的分子质量为124kDa，PII分子质量为118kDa。PI在黑暗中大量合成，

但在光下迅速降解；而PII在光下和黑暗中都可合成，在绿色和黄化组织中含量基本一致，在光下也较稳定，虽然其含量低，但却是绿色组织中主要的光敏色素类型。PI在红光区的吸收高峰是666nm，而PII在红光区的吸收高峰在652nm。PI负责包括幼苗去黄化、光诱导的一些酶合成及色素合成等类型的反应；而PII负责的反应发生在光下生长的植物中；但已知像细胞伸长的反应等是由PI和PII共同调节的。

分子生物学研究证明，在被子植物中存在光敏色素基因家族。如豌豆、玉米、燕麦等植物中都有2个以上光敏色素基因，利用编码光敏色素脱辅基蛋白保守区域0.9kb探针，已经发现拟南芥基因组含有5个编码光敏色素的基因，包括*PHYA*、*PHYB*、*PHYC*、*PHYD*和*PHYE*。其中的*PHYA*基因是编码黑暗中大量形成的PI的，在光下*PHYA*基因的转录活性被强烈抑制。*PHYB*到C基因编码PII，在暗中和光下都低水平表达。*PHYB*的基因产物则可能是PII脱辅基蛋白中的一种，拟南芥中*PHYB*的转录基本上不受光的影响，其基因产物是光稳定的，在水稻黄化幼苗中*PHYA* mRNA的含量是*PHYB* mRNA的5倍，而在绿色组织中二者含量相同，这是因为照光使*PHYA*的转录下降。*PHYA*具有器官或组织特异性，在黄化水稻幼苗中，*PHYA* mRNA在叶片中的含量是根中的2倍，相反，在绿色幼苗的根中比叶片中含量高。不同类型的光敏色素在不同光条件下行使特定的功能，如phyA主要在远红光控制幼苗下胚轴的伸长生长中起作用；而phyB主要在红光抑制幼苗下胚轴生长中起作用。

**表15-2　绿色植物中一些典型的光敏色素控制的反应**

| 藻类、苔藓类 | 裸子植物 | 被子植物 |
|---|---|---|
| 孢子萌发 | 种子萌发 | 种子萌发 |
| 叶绿体运动 | 胚芽弯勾伸直 | 胚芽弯勾伸直和子叶展开 |
| 原丝体生长分化 | 节间伸长 | 茎节间伸长 |
| | 芽萌发 | 根原基分化和根的生长 |
| | | 叶片分化和生长 |
| | | 单子叶植物叶片展开 |
| | | 叶绿体发育及叶绿素合成 |
| | | 叶感夜运动 |
| | | 向光性敏感性 |
| | | 膜电位、膜透性变化和离子流动 |
| | | 核酸、蛋白质合成及酶活性 |
| | | 花青素合成 |
| | | 光周期成花诱导 |

## （二）植物的光敏色素反应类型

植物个体发育的整个过程，包括种子的萌发到幼苗生长、地上部的发育到根的生长、从花芽分化到器官休眠和衰老都离不开光敏色素调节的作用。表15-2列举一些光敏色素调节的重要反应。

由于光环境的改变，引起植物对光产生不同的生理反应，根据不同反应的光生物学特征，可将光敏色素参与调节的反应分为低辐照度反应（low fluence response，LFR）、极低辐照度反应（very low fluence response，VLFR）和高辐照度反应（high-irradiance reaction，HIR）三种类型。

**1. 低辐照度反应**

1$\mu$mol/m$^2$的光强即可启动这类反应，1000$\mu$mol/m$^2$时达到饱和。这是通常所指的R / FR诱导 / 可逆反应。反应可被一短暂的红闪光有效诱导，并可被随后的远红光照射逆转，这是光敏色素介导反应的重要特征。

多数熟悉的光形态建成是LFR。如需光莴苣种子的萌发，仅需几秒至几分钟照光即促进萌发，图15-8显示拟南芥种子的萌发被R / FR可逆控制的作用光谱，这是最典型的光敏色素反应之一。也有的种子需几小时或数天连续或间断照光才能萌发。由于种子贮存的营养有限，光敏色素给幼苗传达了它相对于土壤表层位置的信息，幼苗迅速伸长以达到土表，子叶扩张、叶绿体发育，建成子叶的光合能力，接受到光照而进行光合作用，使幼苗能很快地自养。由于土壤使光衰减很明显，所以需光种子不能播种太深。

幼苗的正常形态建成也是典型的光敏色素 LFR。在自然条件下，光谱成分不是完全一致的，出土的幼苗依赖不同类型的光敏色素感光而完成去黄化或避阴反应。在直射阳光下，大量红光激活 phyB 诱导去黄化反应；生活在植株冠层下的幼苗，由于层层叶片吸收了红光而富远红光，phyA 感受持续的远红光，诱导去黄化反应。由于 phyA 不稳定，完成去黄化反应后，很快降解；phyB 吸收远红光而促进幼苗下胚轴伸长，使幼苗尽快伸展到上层接受阳光以实现自养，这是幼苗的避阴反应。

其他如细胞膜电位变化、离子流动和分布、转板藻叶绿体转动等都是这种 R / FR 的诱导的可逆反应。

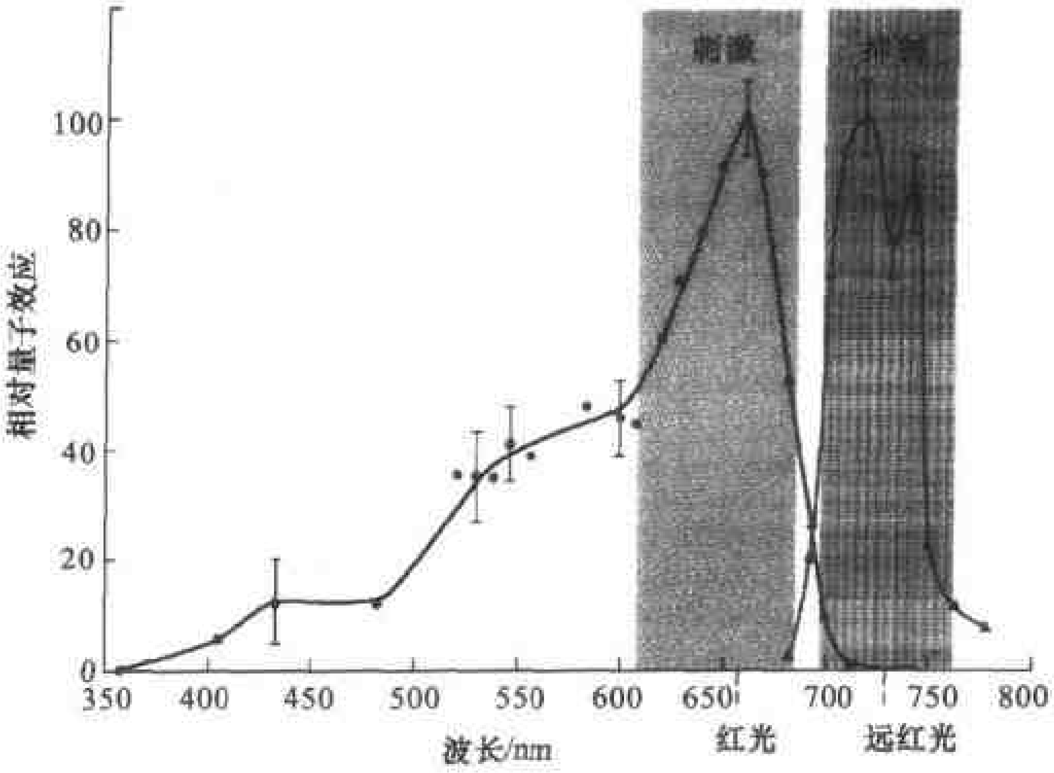



图 15-8 拟南芥种子萌发中光可逆刺激与抑制的 LFR 作用光谱
(Taiz & Zeiger 1998)

**2. 极低辐照度反应**

这类反应可以被 $10^{-4}\sim10^{-2}\mu mol/m^2$ 的红光或远红光诱导，但红光反应不能被远红光所逆转。VLFR 仅在种子吸胀或幼苗完全生长在黑暗中时才能鉴别出来，即使是实验室的绿色安全光下也可发生反应。暗生长的燕麦幼苗可对非常低水平的光起反应，红光刺激胚芽鞘生长并抑制中胚轴伸长；拟南芥种子可被 1～100 $nmol/m^2$ 的红光诱导萌发。VLFR 的作用光谱峰在红光和蓝光区，说明其光受体是光敏色素，而且可能有蓝光受体参与。

**3. 高辐照度反应**

这是指需要相对强的连续光照的反应，激活反应的光强需大于 $10\mu mol/m^2$，达到饱和的光强度比 LFR 要高 100 倍。是波长、辐照强度及光照时间的综合作用，光照越强、光照时间越长，则反应越大。

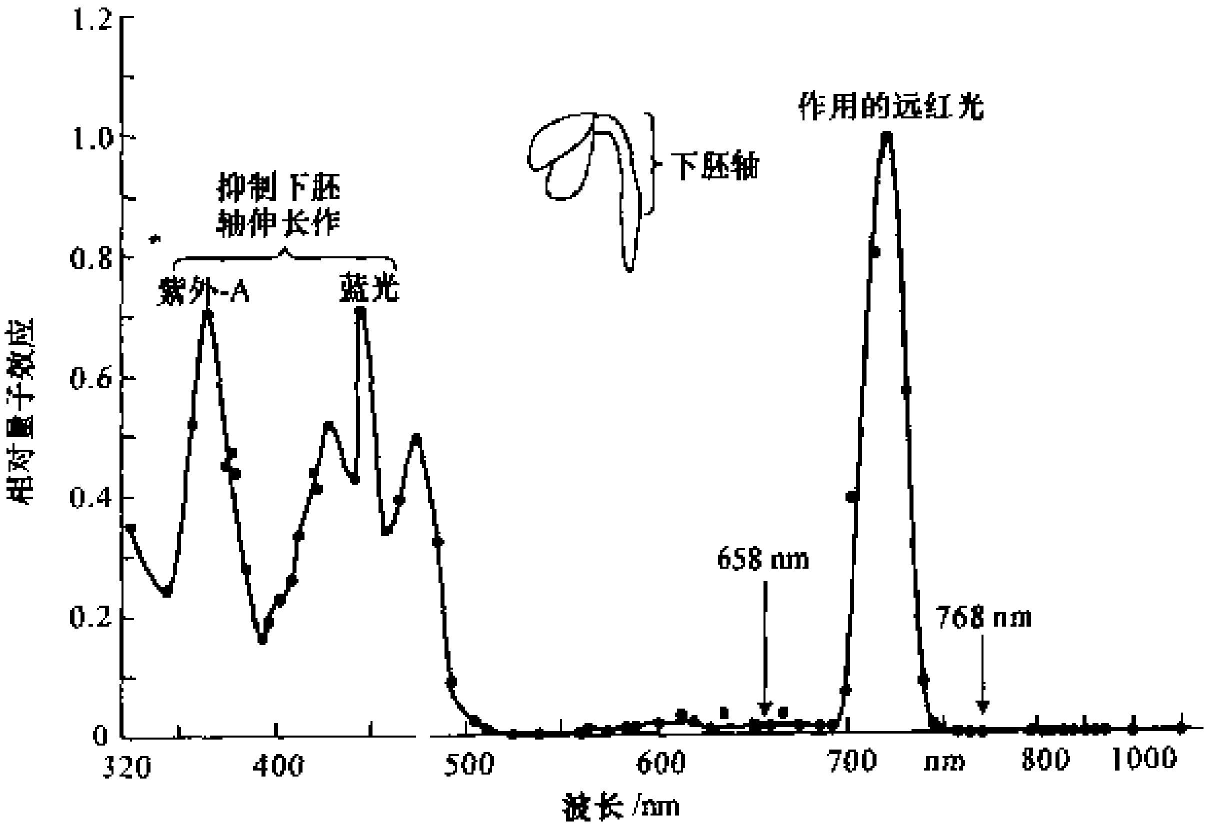



图 15-9 暗生长莴苣幼苗抑制下胚轴伸长的 HIR 作用光谱
(Taiz & Zeiger 1998)
抑制下胚轴伸长的作用光谱峰在紫外光 A、蓝光和远红光区。

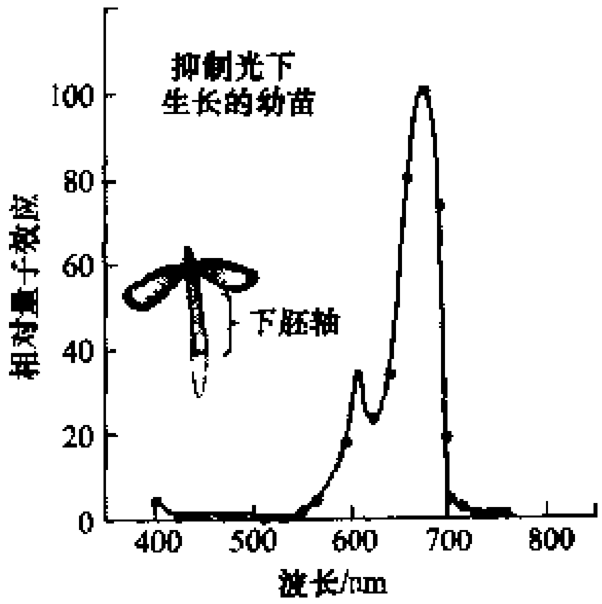



图 15-10 光下生长的白芥幼苗抑制下胚轴伸长的 HIR 作用光谱
(Taiz & Zeiger 1998)

不是 R / FR 可逆反应，是连续红光或远红光反应。在自然环境下生长的绿色植物，不可能像在实验室内那样，在严格控制光波长条件下生长。一般总是在高辐照度的阳光、长时间照射下生长，其光形态建成达到最充分表达。幼苗下胚轴伸长的抑制(图 15-9)、弯勾伸直、去黄化及一些植物花色素苷的合成等都是 HIR。因这类反应的作用光谱在红光、远红光、蓝光-紫外光 A 区，可能其光受体有光敏色素和蓝光受体(图 15-10)。

## （三）光敏色素作用的细胞和分子基础

光敏色素作为植物的一种重要的光受体，接受环境中的光信号后如何转换为生物化学信号、导致体内的各种不同反应，目前提出的主要是两种假说，即 Hendricks 等(1967)提出的膜假说和 Mohr (1966)提出的基因调节假说。

**1. 膜假说**

膜假说认为光敏色素能改变细胞中一种或多种膜的特性和功能，光敏色素调控的快速反应和膜性质的变化有关。实验证明，光敏色素 Pfr 能结合到质膜、叶绿体膜、线粒体膜等膜上。黄化的玉米或燕麦幼苗提取液离心后，有 5%～10%的光敏色素随膜碎片沉降，但用红光照射后，即光敏色素 Pr 转换为 Pfr 后，则有 60%～80%的光敏色素沉降下来。用免疫组织化学方法观察黄化燕麦胚芽鞘细胞中，有荧光标记的光敏色素 Pr 在细胞质中均匀分布；而在 25℃照射 3 分钟红光后，光敏色素 Pfr 迅速集中到一定的区域中，这种分隔化的变化可能涉及到光敏色素活化的原初反应，影响膜的性质。

光敏色素和膜的结合可能影响膜质子泵活性而导致膜电势快速变化，引起 $K^+$ 离子通道状态变化，发生 $K^+$ 的跨膜流动和细胞内 $Ca^{2+}$ 的变化。如转板藻(*Mougeotia*)是含有单个片状叶绿体的绿藻，在照光的 60s 内即可观察到光诱导转板藻的叶绿体转动。同时，在照射红光的 30 秒后，3 分钟内可检测到在转板藻体内 $Ca^{2+}$ 积累速度增加 2～10 倍。这个效应可被红光后立即照射 30 秒远红光所完全逆转。一些研究者提出在转板藻光诱导的叶绿体运动中，从光受体到生理反应之间存在这样一条信号传递链：红光→Pfr 增多→影响膜性质→跨膜 $Ca^{2+}$ 流动→细胞质中 $Ca^{2+}$ 浓度增加→钙调素活化→肌球蛋白轻链激酶活化→肌球-肌动蛋白收缩运动→叶绿体转动。

**2. 基因调节假说**

光调控的种子萌发、酶蛋白的合成、成花反应等发育过程，都涉及基因的转录和蛋白质的翻译。自 1960 年 Marcus 首先报道 R / FR 可逆控制甘油醛-3-磷酸脱氢酶活性以来，至今已发现有 60 多种酶和蛋白质受光调控。如光合作用的捕光色素蛋白(LHCP)、Rubisco、NADPH-脱植基原叶绿素氧化还原酶、硝酸还原酶、苯丙氨类生物合成酶系、光基因 32、光敏色素自身的合成等都受光敏色素调控。这些酶涉及光合作用、呼吸代谢、氮素同化、核酸与蛋白质合成及降解、脂肪和淀粉代谢、次生物质和生长调节物质的合成等许多重要生理生化过程，而且大部分通过光敏色素调节的作用都在转录水平上调节基因表达，可见光敏色素对植物生命活动何其重要。

对于光敏色素如何调节基因表达，由于 Rubisco 和 LHCP 在叶绿体发育和叶片转绿中起重要作用，所以，对 Rubisco 小亚基(SSU)的基因 *rbcS* 和 LHCP 的基因 *cab* 表达的光敏色素调节方面进行了较深入的研究，并提出了一个有关的模式(图 15-11)。对光调节 SSU 和 LHCP 基因位点的研究发现，在 *rbcS* 和 *cab* 转录起始点上游启动子区 DNA 序列中存在光调节因子(light regulated element, LRE)，红光照射使 Pr 转换为 Pfr，可能激活细胞质中的调节蛋白，这种特异蛋白和 LRE 结合，起到光开关的作用，使 *rbcS* 基因得以转录，进而合成 SSU 蛋白，进入叶绿体，与在叶绿体中合成的大亚基 LSU 结合，组装成 Rubisco 全酶。同样，LHCP 合成后装配在类囊体膜上的光系统复合物中。

光敏色素除了能在光下诱导许多重要的蛋白质基因转录外，还对一些基因表达有负调节作用，特别是对光敏色素自身基因表达的自动调节引起人们的兴趣。研究发现，无论是燕麦、高粱、大麦、玉

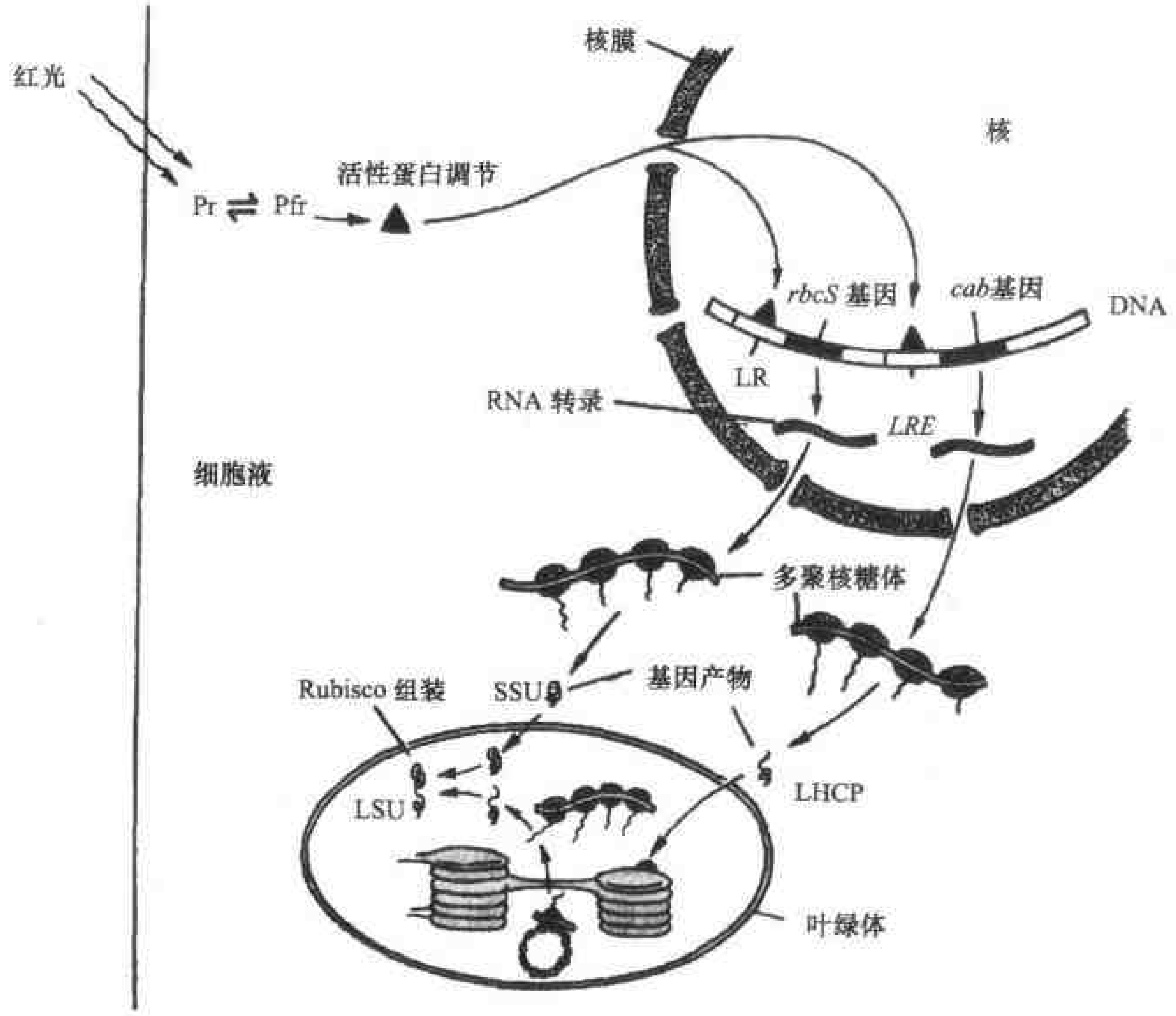



图 15-11 光敏色素调节 *rbcS* 和 *cab* 基因转录的模式(曹仪植和宋占午 1998)

米、水稻等单子叶植物,还是豌豆、拟南芥、烟草等双子叶植物,其 *PHYA* 基因表达是 R / FR 可逆调节的。如短红光照射黄化豌豆幼苗,其可翻译 *PHYA* mRNA 和 phyA 蛋白含量都明显下降,*PHYA* mRNA 快速下降到起始含量的约 15%,并可被随后的 FR 照射所逆转。但 *PHYB* mRNA 和 phyB 的含量却不因照光而下降,暗示光敏色素基因家族中各基因的表达有不同的调控方式。

**3. 光敏色素信号传导途径**

在光敏色素活化形式 Pfr 和不同的光形态建成最终反应之间,发生了哪些信号传导?是否由不同的信号传导途径导致不同的最终反应?抑制剂和激活剂实验证明,在红光诱导的黄化小麦原生质体膨大的作用中,有 G 蛋白、磷脂酶 C、$Ca^{2+}$、钙调素、cGMP 等参与信号传导。许多证据说明光敏色素调节的快速反应中有 $Ca^{2+}$ 的参与,红光可诱导 $Ca^{2+}$ 的流入,引起胞质 $Ca^{2+}$ 的瞬时变化,$Ca^{2+}$ 螯合

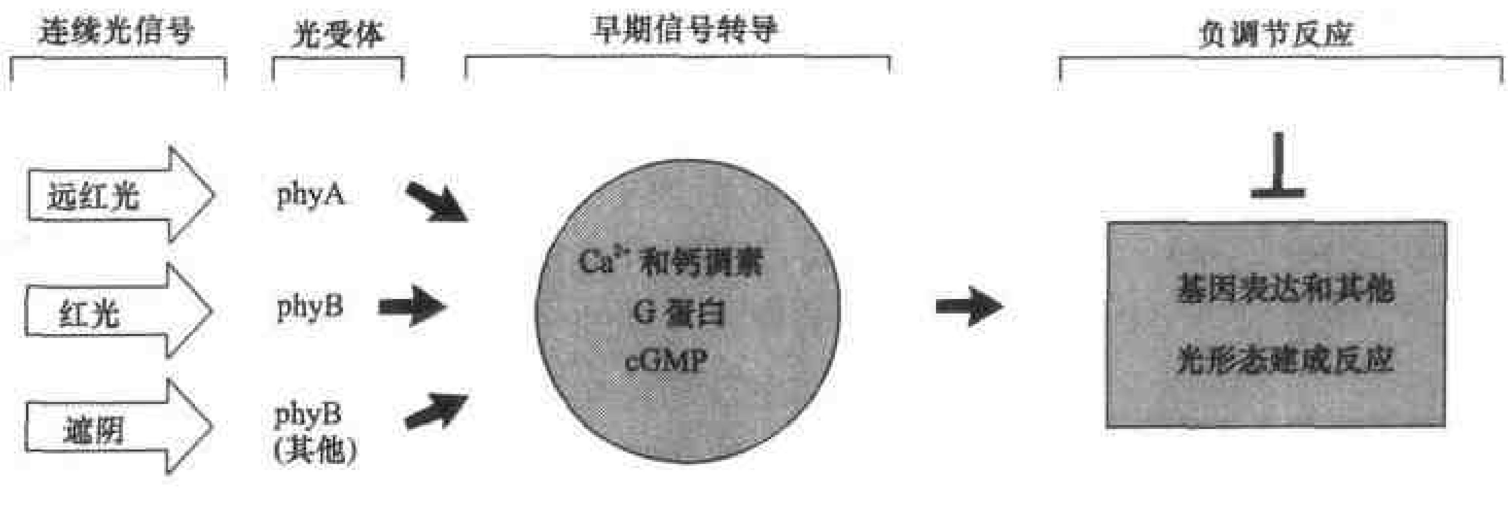



图 15-12 介入光形态建成中的信号事件(Taiz & Zeiger 1998)

光信号被适当的光敏色素光受体接收后,活化某一信号转导途径,可能包括 $Ca^{2+}$ 和 CaM、G 蛋白及 cGMP。早期的信号事件诱导转录因子活化,克服被 COP 和 DET 蛋白对光敏色素反应基因的负调节。

剂或钙调素抑制剂可阻遏红光引起的光敏色素反应，能导入 $Ca^{2+}$ 的药剂可取代红光而引起光敏色素反应。图 15-12 简要说明了光敏色素信号转导途径的轮廓。

**4. 光敏色素突变体**

近年来，人们利用分子遗传手段筛选突变体，用以研究光敏色素作用机制。已在拟南芥、黄瓜、番茄、豌豆、甘蓝、高粱等植物中筛选到大量突变体。其中一类是光敏色素缺失突变体，缺乏对红光和远红光的感受能力，在光照下也表现野生型的暗形态建成，一个典型特征是具有长下胚轴。如拟南芥突变体 *hy* 不能合成光敏色素生色团，加入合成生色团的前体物即可恢复其野生型的表型。第二类是光照不敏感型突变体，如拟南芥突变体 *hy5*、*fhy1* 和 *fhy3* 等，它们有正常的光敏色素水平，但对红光、远红光和蓝光都不敏感，光形态建成异常，表现长下胚轴，其野生型基因可能作为正效应物促进光形态建成，并说明可能由其基因编码产物控制下胚轴伸长；也可能是光敏色素信号传导途径中某组分发生了突变。第三类是黑暗光生长型突变体，如拟南芥的 *det*、*cop*、*pho* 等突变体，在暗中生长的幼苗却表现为光下野生型幼苗的形态特征，说明其野生型基因编码产物在暗中可能作为负效应物抑制光形态建成，而在光下这种抑制效应消失。通过对光敏色素突变体的筛选和研究，可对不同类型的光敏色素的特殊功能进行鉴定，了解光敏色素家族各个成员的特定作用；同时可促进我们了解光敏色素信号传导过程，以最终认识光敏色素对植物发育的调节机制。

## 三、蓝光和紫外光反应

### （一）蓝光反应

植物界存在的第二类光形态建成反应是蓝光调节的反应。真菌体内没有叶绿素和光敏色素，它们的许多生物学过程受蓝光调节，如真菌的类胡萝卜素合成、分生孢子形成及孢囊柄的向光性等，藻类叶绿体和光合能力的发育，蕨类配子体原叶体的形成等。高等植物对蓝光的光量和方向起反应，可将蓝光信号转换为电的、代谢的、发育的信号及生理过程，包括细胞内叶绿体运动、植物的向光性反应、对下胚轴伸长的抑制、气孔运动、趋光性、叶绿素和类胡萝卜素等色素的生物合成、刺激呼吸代谢、离子吸收、影响跨膜电位、基因表达的活化等。

**1. 蓝光抑制茎的伸长生长**

在土壤中萌发种子的胚轴或胚芽鞘伸长得很快，一旦幼苗出土见光，伸长生长即受到抑制，这是植物的一种重要形态建成反应。已知光敏色素参与降低伸长速率反应，而且也是红光－远红光可逆的。但是从抑制莴苣茎伸长反应的作用光谱中显示出蓝光的作用（图 15-13）。光生理学实验提供了证据：在强黄光背景下，低光量的蓝光即可抑制莴苣幼苗下胚轴生长的 50% 以上，而蓝光对黄光建立的光敏色素 Pfr / Pr 平衡的影响是非常小的，由此可排除光敏色素的效应；从反应的时间可以区别是光敏色素或蓝光介入的反应，光敏色素介入的伸长速率的变化在 15～90 分钟内检测到，而抑制下胚轴生长的蓝光反应可在 15 秒内检测到。目前认为这种快速反应是由于蓝光引起 $Cl^-$ 等阴离子从细胞流出，导致膜的去极化的结果（图 15-14），因为用阴离子通道抑制剂可阻断蓝光引起的膜的去极化，并减弱蓝光抑制下胚轴伸长的效应。

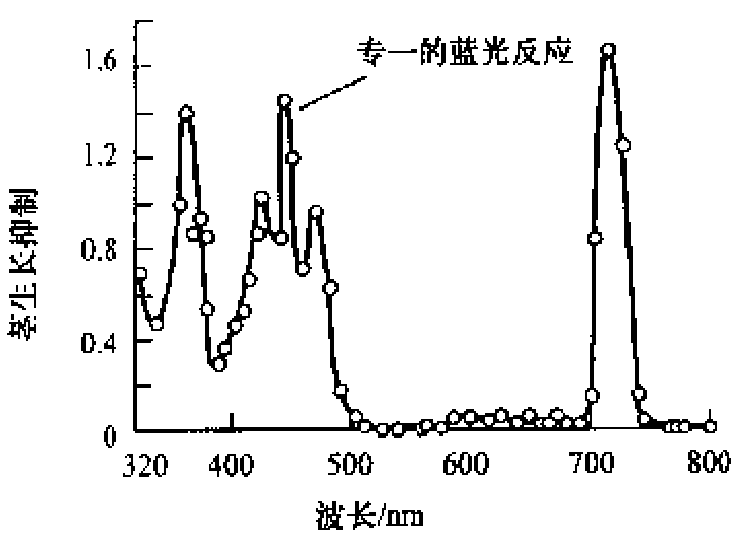



图 15-13　暗生长莴苣和芥菜茎伸长被抑制的作用光谱（Taiz & Zeiger　1998）

在 400～500nm 波长区的"三指"结构是典型的蓝光反应，在 600～750nm 波长区的反应表明光敏色素介入该反应。

**2. 蓝光调节的基因表达**

蓝光参与调节一些重要的形态建成过程中的基因表达。如编码类黄酮生物合成中的查耳酮合成酶的基因、Rubisco 小亚基的基因、叶绿素 a / b 结合蛋白的基因等都对蓝光和红光敏感。已经证明在光合单细胞衣藻中缺乏光敏色素，其 *GSA* 基因是仅由蓝光调节的，此基因编码谷氨酸-1-半醛转氨酶，这是叶绿素生物合成中的一个关键酶，照光 2 小时后，*GSA* mRNA 水平是在暗中时的 26 倍，而后叶绿素含量增加（Matters & Beale 1995）。由于对许多酶转录的影响，蓝光可影响植物的碳水化合物、蛋白质、核酸的代谢。

一种对蓝光不敏感的拟南芥突变体 *ary1*，没有蓝光抑制下胚轴伸长的反应，但其他蓝光反应和正常植株一样。其突变的基因编码一个含 681 个氨基酸的可溶性蛋白 CRY1，如使这种蛋白在拟南芥或转基因烟草中超表达，则植物有很强的蓝光抑制下胚轴伸长的反应，在蓝光下其下胚轴比野生型更短，同时增加花色素苷的积累（图 15-15），推测 CRY1 在细胞中可能起蓝光受体的作用，而且植物对蓝光的敏感性依赖于这种蓝光受体的浓度，即 *CRY1* 基因的超表达增加了转基因植物对蓝光的敏感性。

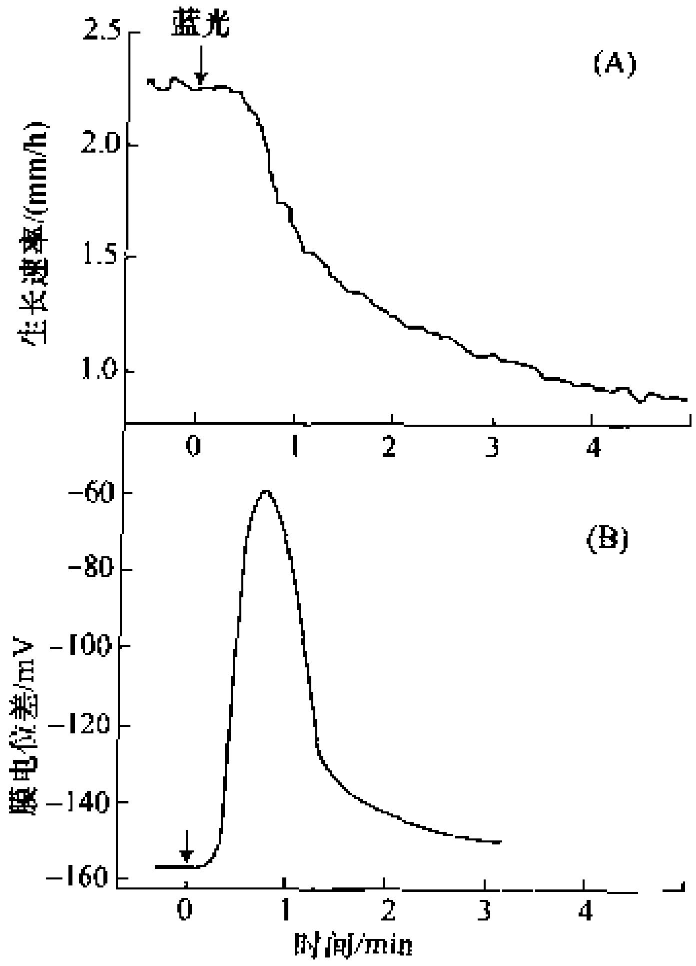



图 15-14 蓝光诱导黄化黄瓜幼苗伸长速率的变化

（Taiz & Zeiger 1998）

（A）下胚轴细胞膜去极化；（B）用胞内电极测得膜去极化达最大时，生长速率显著下降。膜的去极化开始于生长速率下降之前，暗示两种现象之间存在因果关系。

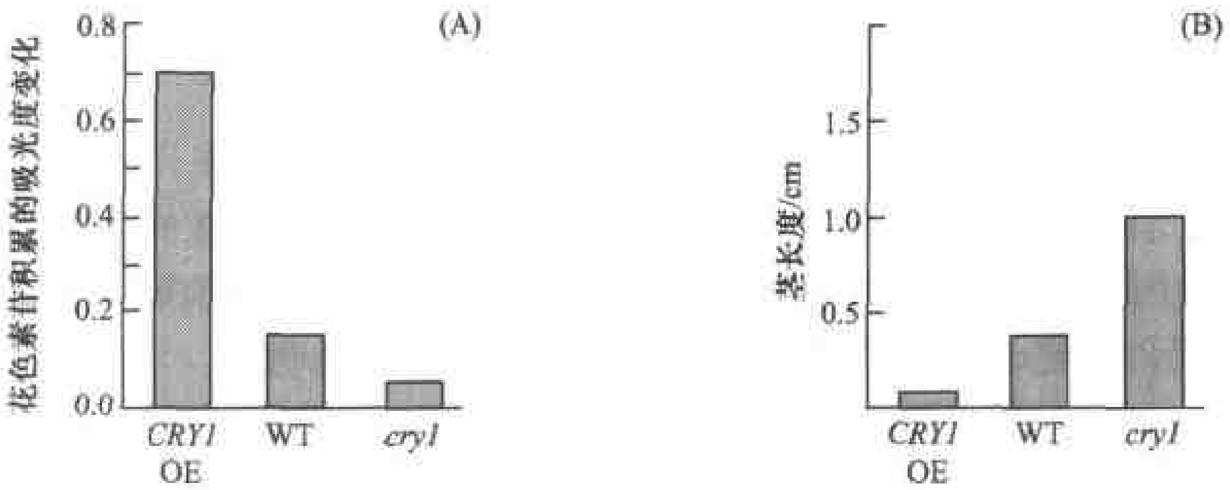



图 15-15 蓝光对拟南芥转基因植株和突变体植株刺激花色素苷积累（A）和抑制茎伸长（B）的作用

（Taiz & Zeiger 1998）

*CRY1* 超表达的转基因植株（CRY1 OE）、野生型（WT）和突变体（*cry1*）的反应。*CRY1* 超表达的转基因植株对蓝光反应增强，说明该基因产物在刺激花色素苷生物合成与抑制茎生长中起重要作用。

近来又从白芥、藻、豌豆、番茄、水稻中分离了同源序列的 *CRY1* 基因，还从拟南芥中分离到和 *CRY1* 同源的 *CRY2* 基因，它不参与蓝光对下胚轴伸长的抑制，但参与蓝光促进子叶扩张的反应。

**3. 蓝光刺激的向光性弯曲与气孔运动**

在植物的运动一章中，我们已经了解了植物的向光性运动，从其作用光谱知道是由蓝光受体接受光的信号而引起的。蓝光刺激的气孔开放在植物整体的水分平衡一章中也已详细讨论，这里不再赘述。

**4. 蓝光反应的光受体性质和信号转导**

蓝光反应的作用光谱具有一个典型的特征，即在 400～500 nm 波长范围有一特殊的"三指"峰（图 15-16），和类胡萝卜素的吸收光谱较为吻合，而植物的向光性反应的作用光谱在 360 nm 处的峰与核黄素的吸收光谱类似，不过顺式类胡萝卜素在该处也有一小尖峰。蓝光反应的作用光谱没有光敏色素的红光-远红光反应可逆反应。一般将蓝光和紫外光 A 的受体称隐花色素（cryptochrome），是植物对 400～500 nm 的蓝光和 320～400 nm 的近紫外光的光敏感受体色素。隐花色素的性质是什么？可能是结合核黄素或类胡萝卜素的蛋白，已初步证明拟南芥 *CRY1* 基因编码的由 681 个氨基酸残基组成的可溶性蛋白 CRY1 具有蓝光受体的结构特点。植物的蓝光受体除可能有不同的发色团外，还有不同的脱辅基蛋白。

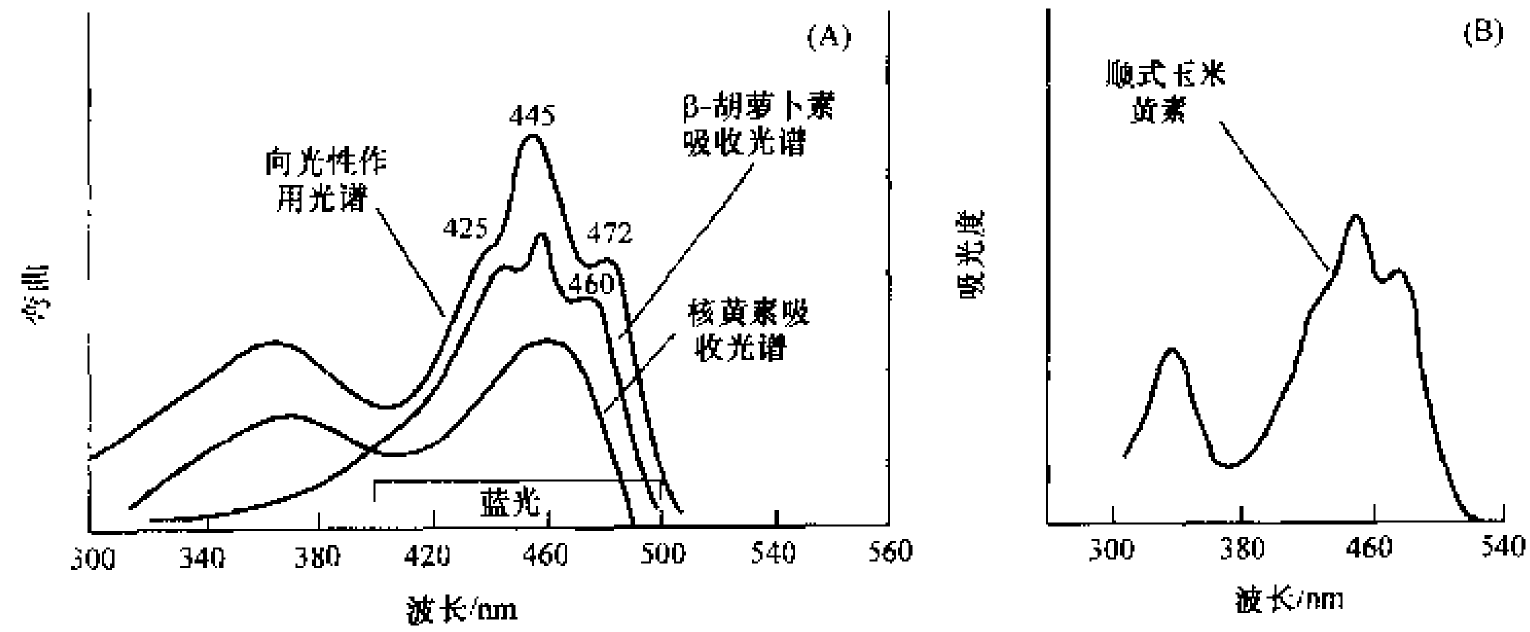



图 15-16　向光性作用光谱与核黄素和类胡萝卜素吸收光谱的关系（Taiz & Zeiger　1998）
（A）β-胡萝卜素乙醇溶液和核黄素水溶液吸收光谱与向光性作用光谱比较；（B）顺式类胡萝卜素玉米黄素吸收光谱，与反式玉米黄素不同，顺式异构体在 350nm 处也有一吸收峰。

蓝光抑制幼苗下胚轴伸长生长的反应虽然很快，但也包括了细胞扩张和分裂的抑制。在 15 秒内检测到的质膜去极化是其信号转导的步骤之一，利用突变体研究也表明蓝光诱导的蛋白质磷酸化是其信号转导级联反应中的一步。对蓝光诱导气孔开放的信号转导途径目前研究较多（见"植物整体水分平衡"一章），而在光形态建成反应中，蓝光信号转导的途径还不甚明确。

## （二）紫外光-B 反应

紫外光-B 反应是细胞吸收 280～320 nm 波长的紫外光（UV-B）引起的光形态建成反应，其最大效应在 290～300nm 波长范围。UV-B 影响植物的光合作用、物质代谢、离子运输等过程，引起植物的叶面积减小、茎伸长抑制、作物产量下降、色素合成等形态变化。但目前对这类反应的光受体性质尚不清楚。一个重要的反应是在一些植物中诱导类黄酮的生物合成，如高粱花色素苷积累的作用光谱峰在 290nm、385nm、650nm，说明光敏色素、蓝光受体和 UV-B 受体都起作用，但除非先经 UV-B 光处理后，红光和蓝光才有效。由于环境污染、高纬度地区大气臭氧层遭受破坏，致使大气层紫外线辐射提高，植物吸收紫外线促进类黄酮物质合成，可能是抵御紫外线伤害的一种途径，已引起人们的关注。

# 第二节　光周期现象

地球围绕太阳公转，在地球上不同纬度地区的温度、雨量和日照长度等随季节有规律地变化，地

球又以24小时周期自转而有昼夜的变化，在各种气象因子中，日照长度变化是最可靠的信号，不同纬度地区昼夜交替长度的季节性变化是很准确的(图15-17)。在夏季，纬度愈高的地区，昼愈长，夜愈短；而在冬季，纬度愈高的地区，昼愈短，夜愈长；春分和秋分时，各纬度地区昼夜长度相等，均为12小时。自然界一昼夜间的光暗交替称为光周期(photoperiod)。生长在地球上不同地区的植物在长期适应和进化过程中表现出生长发育的周期性变化，植物对日长度发生反应的现象称为光周期现象(photoperiodism)。植物的开花、休眠、落叶以及鳞茎、块茎、球茎等地下贮藏器官的形成都受日照长度的调节，但是，在植物的光周期现象中最为重要且研究最多的是植物成花的光周期诱导。

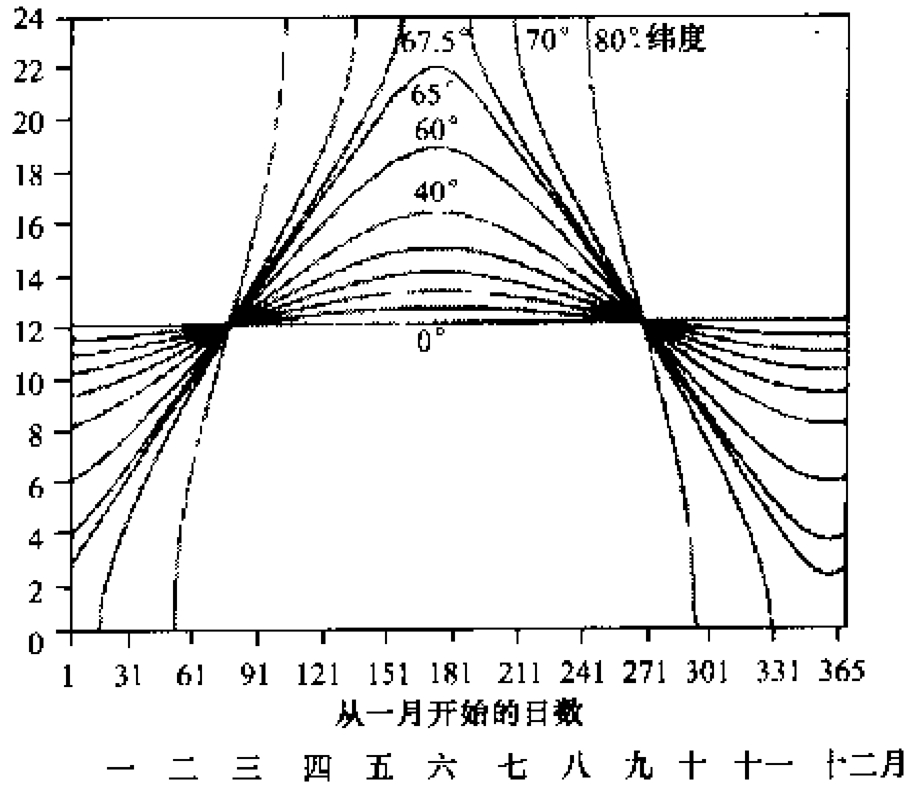



图15-17 北半球不同纬度地区日长的变化
(Salisbury & Ross 1992)

## 一、植物光周期现象的发现和成花反应的光周期类型

### (一) 光周期现象的发现

人们早就注意到许多植物的开花具有明显的季节性，每种植物在一年中的特定季节开花；同一品种植物在同一地区种植时，尽管在不同时间播种，开花期却都差不多；同一品种在不同纬度地区种植时，开花期表现有规律的变化。植物如何能感知季节和一天中的时间？是什么环境信号控制植物的开花？植物如何接收并转换这些信号、最终导致和开花相关的发育转变等问题引起人们的极大兴趣。是否植物的开花和日照长度有关？美国园艺学家Garner和Allard的实验结果回答了这个问题。1920年他们观察到烟草的一个变种(Maryland Mammoth)在华盛顿附近地区夏季生长时，株高达3～5m仍不开花，但在冬季转入温室栽培后，其株高不足1m就可开花。他们试验了温度、光质、营养等各种条件，发现日照长度是影响烟草开花的关键因素。在夏季用黑布遮盖人为缩短日照长度，烟草就能开花；冬季在温室内用人工光照延长日照长度，则烟草保持营养状态而不开花。由此他们得出结论，短日照是这种烟草开花的关键条件。后来的大量实验证明，植物的开花与昼夜光暗的长度即光周期有关，许多植物必须经过一定时间的适宜光周期后才能开花，否则就一直处于营养生长状态。光周期现象的发现，使人们认识到光不但为植物光合作用提供能量，而且作为环境信号调节植物整个生命周期中许多发育过程，特别是在植物成花反应中的“信号”作用。

### (二) 植物成花的光周期反应类型

通过用人工延长或缩短光照的方法，广泛地检查了各种植物开花对日照长度的反应，通常可以把植物分为以下几种类型：

**1. 长日植物**

长日植物(long-day plant，LDP)指在24小时昼夜周期中，日照长度必须长于一定时数，才能成花的植物，延长光照可促进和提早开花；相反，如延长黑暗则推迟开花或不能成花。属于长日植物的有：小麦、大麦、黑麦、油菜、菠菜、萝卜、白菜、甘蓝、芹菜、甜菜、胡萝卜、金光菊、山茶、杜鹃、桂花、天仙子等。如典型的长日植物天仙子必须满足一定天数的8.5～11.5小时日照才能开花，如果日照长度短

于8.5小时就不能开花。

**2. 短日植物**

短日植物(short-day plant,SDP)指在24小时昼夜周期中,日照长度短于一定时数才能成花的植物。对这些植物适当延长黑暗或缩短光照可促进和提早开花,如延长日照则推迟开花或不能成花。属于短日植物的有:水稻、玉米、大豆、高粱、苍耳、紫苏、大麻、黄麻、草莓、烟草、菊花、秋海棠、腊梅、日本牵牛等。如菊花须满足少于10小时的日照才能开花。

在这两种类型中,按其对日长要求的严格程度又可分为绝对长日或绝对短日植物和相对长日或相对短日植物。

**3. 日中性植物**

日中性植物(day-neutral plant,DNP)的成花对日照长度不敏感,在任何长度的日照下均能开花。如黄瓜、茄子、番茄、辣椒、菜豆、棉花、君子兰、向日葵、蒲公英等。

除了以上三种典型的光周期反应类型以外,还有一些其他类型。

**4. 长-短日植物**

长-短日植物(long-short day plant)要求先长日后短日的双重日照条件,如大叶落地生根、芦荟、夜香树等。

**5. 短-长日植物**

短-长日植物(short-long day plant)要求先短日后长日的双重日照条件,如风铃草、鸭茅、瓦松、白三叶草等。

**6. 中日照植物**

中日照植物(intermediate-daylength plant)只有在某一定中等长度的日照条件下才能开花,而在较长或较短日照下均保持营养生长状态的植物,如甘蔗要求11.5~12.5小时日照。

**7. 两极光周期植物**

与中日照植物相反,两极光周期植物(amphophotoperiodism plant)在中等日照条件下保持营养生长状态,而在较长或较短日照下才开花,如狗尾草等。

## (三) 临界日长

试验表明,对光周期敏感的植物对日照长度的要求都有一定的临界值,或说是植物成花所需的极限日照长度,即临界日长(critical daylength)。对于长日植物的开花,需要日照长度长于某一临界日长;而短日植物则要求短于某一临界日长。有的植物对日照长度的要求非常严格,是质的反应,有明确的临界日长,必须经过连续的、一定天数的长日照才能开花,这类植物称绝对长日植物;同样,有的植物必须经过连续的、一定天数的短日照才能开花,这类植物称绝对短日植物。但是,许多长日植物或短日植物的开花对日照长度的反应并不十分严格,是量的反应,为适宜光周期所促进,它们在不适宜的光周期条件下,经过相当长的时间,也能或多或少的开花,这些植物称为相对长日植物或相对短日植物(图15-18)。表15-3列出了一些植物的临界日长和要求的诱导周期数。可以看出,所谓长日植物,其临界日长不一定都比短日植物的临界日长要长;而短日植物的临界日长也不一定短于长日植物的临界日长。同种植物的不同品种对日照的要求可以不同,如烟草的有些品种为短日植物,而有些品种是长日植物,还有些品种是日中性植物。通常早熟品种多为长日或日中性植物,晚熟品种多为短日植物。此外,植物并不是在一生中都要求所需的日照长度,而仅只是在发育的某一阶段需要一定的日照长度和光周期数。

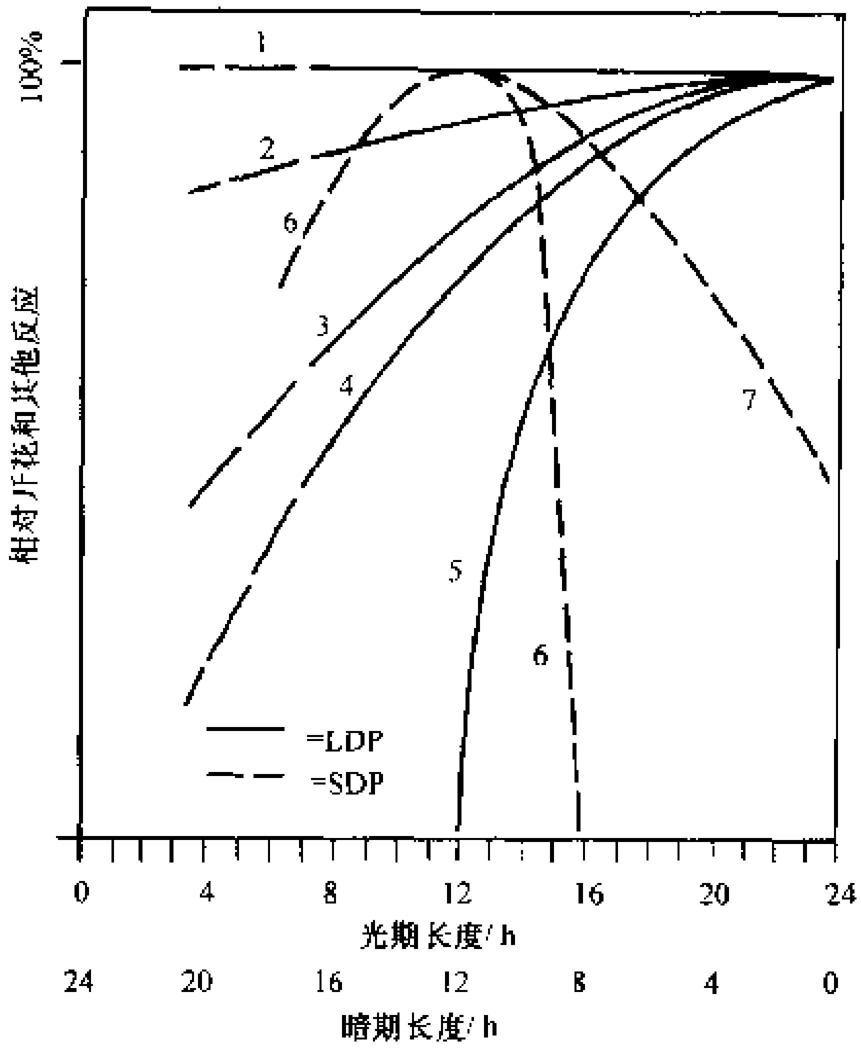



图 15-18 对不同日长的开花反应(Salisbury & Ross 1992)

1. 日中性植物,在任何日长下有相同的开花反应;2、3、4. 相对长日植物,延长日长,从量上促进开花;5. 绝对长日植物,如天仙子在日长 12 小时以上才开花;6. 绝对短日植物,如苍耳在日长短于 15.7 小时,暗期长于 8.3 小时才开花;但如日照短于 5 小时,苍耳也不能开花;7. 相对短日植物,在任何日长下可开花,短日照更有利于开花。

**表 15-3 某些植物花芽开始分化所需的临界日长和诱导周期数**

| 植 物 名 称 | 24 小时周期中的临界日长/h | 最少诱导周期数 |
|---|---|---|
| 短日植物 | | |
| 菊花(*Chrysathemum morifolium*) | 16 | 12 |
| 大豆(*Glycine max cv. Biloxi*) | 13.5～14 | 2～3 |
| 厚叶高凉菜(*Kalanchoe blossfeldiana*) | 12 | 2 |
| 浮萍(*Lemna purpusilla*, *strain* 6746) | 约 14 | 1 |
| 红叶紫苏(*Perilla crispa*) | 约 14 | 12 |
| 裂叶牵牛(*Pharbitis nil cv. Violet*) | 14～15 | 1 |
| 苍耳(*Xanthium Strumarium*) | 15.5 | 1 |
| 长日植物 | | |
| 琉璃繁缕(*Anagallis arvensis*) | 12～12.5 | 1 |
| 天仙子(*Hyoscyamus niger*) | 11.5 | 2～3 |
| 毒麦(*Lolium italicum*) | 11 | 1 |
| 白芥菜(*Sinapis alba*) | 约 14 | 1 |
| 菠菜(*Spinacia oleracea*) | 13 | 1 |
| 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) | | 4 |

## (四) 光期与暗期的作用

在自然条件下，昼夜 24 小时循环，光期长度和暗期长度互补，所以，有临界日长就会有相应的临界暗期(critical dark period)或称临界夜长(critical night length)，这是指在光暗周期中，短日植物能开花的最小暗期长度或长日植物开花的最大暗期长度。那么，是光期还是暗期起决定作用？许多试验表明，植物通过检测光暗周期中的暗期长度来感知日长的变化，特别是暗期间断处理(night break)实验的结果，充分证明了暗期长度的决定作用(图 15-19)：短日植物在超过临界暗期的条件下被诱导开花，长日植物在短于临界暗期条件下开花；如果用短时间的黑暗打断光期，并不影响光周期成花诱导，但如果用闪光处理中断暗期，则使短日植物不能开花，继续营养生长；相反，却诱导了长日植物开花。若在光期中插入一短暂的暗期，对长日植物和短日植物的开花反应都没有什么影响。由此看来，在植物的光周期诱导成花中，暗期的长度是诱导植物成花的决定因素，尤其是短日植物，要求超过一个临界值的连续黑暗。短日植物对暗期中的光非常敏感，对于中断暗期，仅几分钟低强度的光即有效(日光的 10 万分之一或月光的 3～10 倍)，说明这是不同于光合作用的反应，是一种光信号的反应。

中断暗期的时间也很重要，一般来说，在暗期的中间给予闪光最有效。如给予相当长的暗期，对

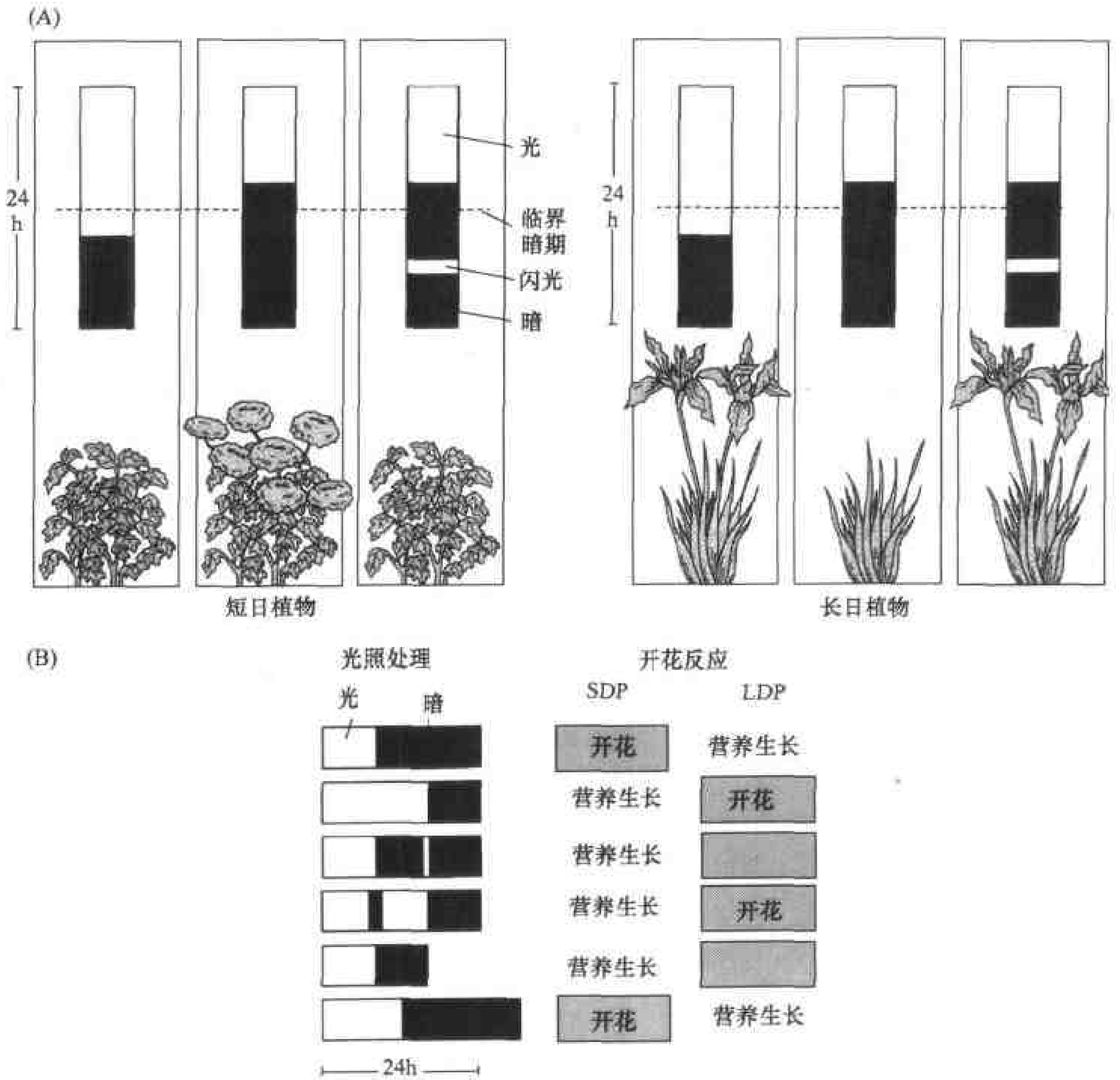



图 15-19　开花的光周期调节(Taiz & Zeiger　1998)

(A)当夜长超过临界暗期时，短日植物开花，用闪光间断暗期阻止开花；夜长短于临界暗期时，长日植物开花，用闪光间断暗期可诱导某些长日植物开花。(B)暗期对开花的效应，不同光周期处理短日或长日植物，证明暗期长度是关键的变量。

暗期间断最敏感期则和距暗期开始的时间有关，如苍耳在延长暗期为24小时时，仍在暗期开始后8小时间断最有效。

虽然对植物的成花反应来说，暗期起决定性的作用，但光期也是必不可少的。短日植物的成花反应要求长暗期，但光期太短也不能成花，大豆在固定16小时暗期和不同长度光期条件下，光期长度增加时，开花反应也增加，但是光期长度大于10小时后，开花数反而下降，只有在适当的光暗交替条件下，植物才能正常开花。一方面，花的发育需要光合作用提供足够的营养物质，所以光期的长度会影响植物成花的数量；另一方面，光质实验表明：长日植物天仙子在16小时光期中，若只给予对光合作用有效的红光，并不能使植物开花，而当有远红光或蓝光配合时则开花。这表明光在光周期反应中的作用不仅仅是进行光合作用以提供物质和能量。

## 二、光周期诱导的机理

### （一）光周期诱导

对光周期敏感的植物只有在经过适宜的日照条件诱导后才能开花，但研究表明，引起植物开花的适宜光周期处理，并不需要一直持续到花芽分化。植物在达到一定的生理年龄时，经过足够天数的适宜光周期处理，以后即使处于不适宜的光周期下，仍然能保持这种刺激的效果而开花，这叫做光周期诱导(photoperiodic induction)。因此，光周期成花反应是个诱导过程，花芽的分化并不一定是在适宜光周期处理的当时，植物可以保持这种诱导状态，改变发育进程。不同种类的植物通过光周期诱导的天数不同(表15-3)，如苍耳、日本牵牛、水稻、浮萍等只要一个短日照周期，其他短日植物，如大豆2～3天，大麻4天，红叶紫苏和菊花12天；毒麦、油菜、菠菜、白芥等仅要求一个长日照的光周期，其他长日植物，如天仙子2～3天，拟南芥4天，一年生甜菜13～15天，胡萝卜15～20天。短于其诱导周期的最低天数时，不能诱导植物开花，增加光周期诱导的天数可加速花原基的发育，花的数量也增多。

### （二）光周期的感受和测量

**1. 植物感受光周期刺激的部位**

植物在适宜的光周期诱导后，发生开花反应的部位是茎顶端生长点，出乎意料的是，感受光周期的部位却不是茎尖。菊花是短日植物，若将菊花全株置于长日照条件下，则不开花而保持营养生长；若将全株置于短日照条件下，可开花；叶片处于短日照条件下而茎顶端给予长日照，可开花；叶片处于长日照条件下而茎顶端给予短日照，却不能开花。甚至离体叶片经短日诱导后嫁接到处于长日下的植株上，也可诱导开花。这充分说明植物感受光周期的部位是叶片。对于光周期敏感的植物，只有叶片处于适宜的光周期条件下，才能诱导开花，而与顶端的芽所处的光周期条件无关。虽然也有少数植物的其他部位对光周期有一定的敏感性，如组织培养的菊苣根可对光周期起反应，但感受光周期最有效的部位是叶片。叶片对光周期的敏感性与叶片的发育程度有关。幼小的和衰老的叶片敏感性差，叶片生长达到最大时敏感性最高，这时甚至叶片的很小一部分处在适宜的光周期下就可诱导开花。例如，苍耳或毒麦的叶片完全展开达最大面积时，仅对$2cm^2$的叶片进行短日照处理，即可诱导成花。

**2. 光敏色素介入植物光周期反应**

使植物处于适合的日照条件下进行诱导，用各种单色光进行闪光间断暗期处理，几天后观察花原基的发生，结果显示阻止SDP(如大豆或苍耳)和促进LDP(如冬大麦)开花均以600～660nm波长的红光最有效，而且是一种红光／远红光可逆反应，并可反复逆转多次(图15-20)。根据光敏色素的特性，表明这是光敏色素参与的反应。

光周期的重要特征是植物通过对暗期长度的检测而感知季节变化。夜间断实验证明对于一些敏

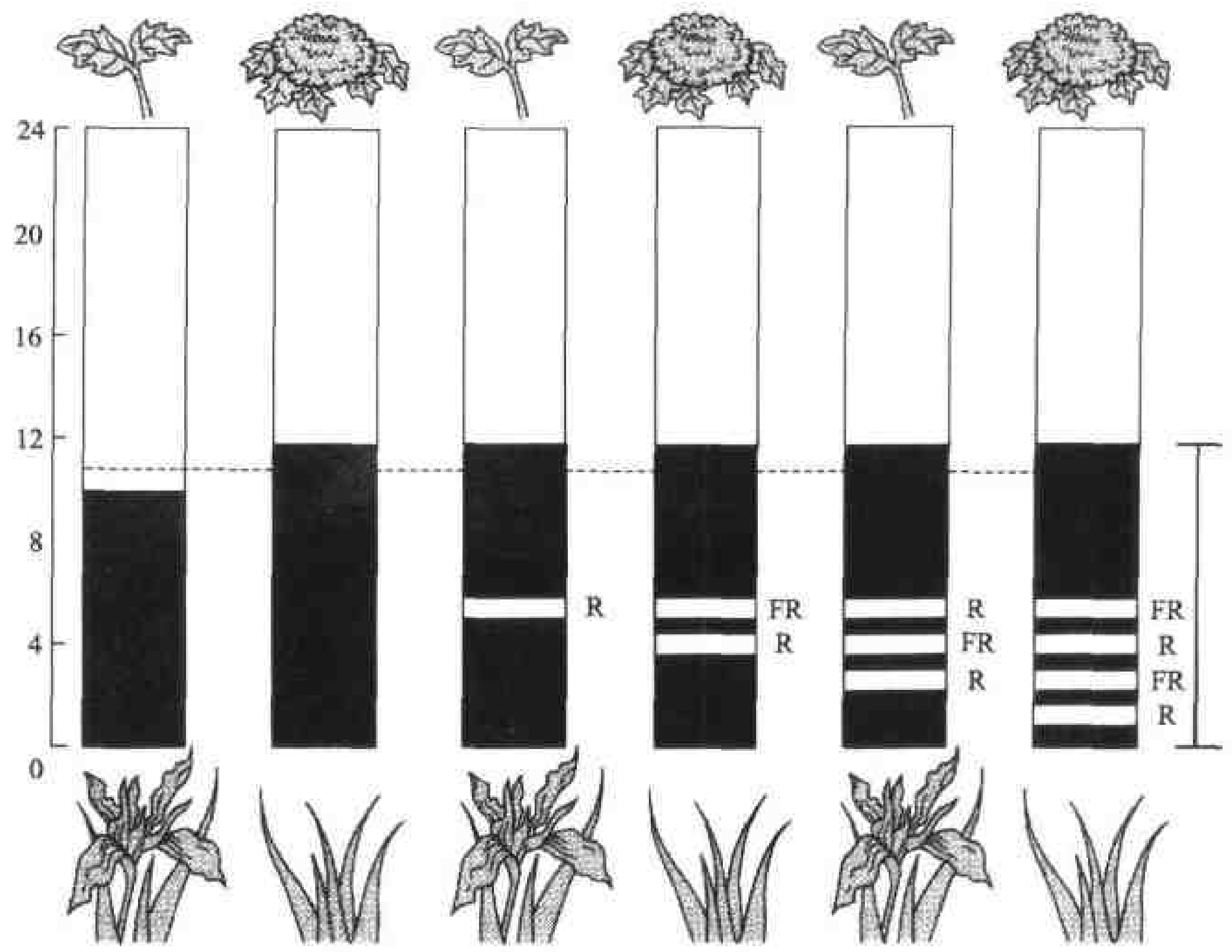



图 15-20　红光(R)和远红光(FR)对开花的控制(Taiz & Zeiger　1998)

夜间断最有效的光是 R，暗期中一次 R 闪光即可诱导 LDP 开花，其效应可被一次 FR 闪光逆转，说明光敏色素介入这个反应；一次 R 可阻止 SDP 开花，其效应也可为 FR 所逆转。

感的 SDP 如苍耳，10μmol/m$^2$的红光就足以抑制开花，其对夜长的测量可以精确到 30 分钟之内。植物是怎样检测暗期长度的？1960 年 Hendricks 等提出光敏色素参与一种滴漏式(hourglass)测时的假说：当植物从光下转入黑暗后，光下形成的光敏色素 Pfr 型便逐渐消失或转化为 Pr 型，而临界夜长就是植物中的 Pfr 减少到一定阈值的标志，只有达到一个临界水平才能启动特殊的成花刺激物合成。在暗期中间用红光照射时，又使 Pfr 水平迅速提高，在以后的暗期中 Pfr 重新开始向 Pr 转化或降解，但是余下的暗期长度不足以使其下降到某一阈值以下了。后来也有认为是由于在暗期中，Pfr / Pr 比值降低到一临界水平促发 SDP 成花刺激物合成的代谢过程。但一些 LDP 可在几小时远红光照射下被促进开花，用这种滴漏式测时机制则不能解释，光敏色素的作用似乎更为复杂。

我们已知有不同类型的光敏色素，红光与远红光的效应可能是由不同类型的光敏色素介入的。LDP 拟南芥、豌豆、高粱等 *PHYB* 基因突变的植株，缺乏 phyB 蛋白，却更快地开花，暗示 phyB 可能作为 LDP 开花的抑制剂，远红光照射使 phyB 的 Pfr 减少，因而促进开花。而红光间断暗期阻止 SDP 开花，恰恰也说明 phyB 的 Pfr 同样是 SDP 开花的抑制剂。当拟南芥和豌豆等的 *PHYA* 基因突变时，它们被长日照诱导的开花受到干扰，所以，phyA 的 Pfr 则在 LDP 开花中起作用。

利用一些突变体研究植物对光周期的感受，还发现蓝光受体也参与某些植物的开花控制，所以光在植物成花诱导中的信号作用也是相当复杂的。

**3. 内源节奏和光周期计时**

一些实验结果不符合光敏色素作为滴漏式计时器的假说，如在光期结束时给 SDP 叶片照射远红光以消除 Pfr，并没有明显缩短临界夜长。现在已经知道，在转入暗期后的很短时间内，Pfr 向 Pr 的转化就完成了，据报道其转化一半的时间仅约 1.0～1.5 小时，显然，这比所有 SDP 的临界暗期都短得多。已知 Pfr 的降解和温度相关，但许多 SDP 的临界夜长基本上不受温度的影响。我们都知道，植物的许多生理活动有一定的昼夜节奏，即植物体内存在内源的生物钟，对于植物的成花反应，是否也存

在这样一种"振荡式"计时器(oscillating timer)。许多实验已经表明,光周期诱导成花现象中存在昼夜节律性的变化。短日植物大豆的临界暗期为10小时15分,给予8小时照光后,再给予不同长度的暗期,实验结果显示:当光暗周期是24小时或24小时的倍数时,开花数多;而光暗周期不是24小时的倍数时,开花数少或不能开花。

将大豆在8小时光照后置64小时黑暗中,在暗期中的不同时期加4小时照光,如果照光时间在原来24小时周期的暗期,则抑制开花;如果照光时间在原来24小时周期的光期,就促进开花。说明生长在连续暗期中的大豆靠其内源的近似昼夜节奏感知光期和暗期。长日植物大麦也有类似的反应。但是其他一些植物不是这样,如苍耳可在连续光下几周后给予一个长暗期,再回到连续照光条件下,同样开花。

Bunning提出:植物对光有一定的内源节奏反应,可分为对光敏感的时相——喜光相和对黑暗敏感的时相——喜暗相,在昼夜24小时中,两相交替,各有一些特殊的生理生化反应。喜暗相可能是植物成花反应的诱导相,如果日照长度加长,落到喜暗相,就会抑制短日植物开花而诱导长日植物开花。

如何联系植物光周期测时的昼夜节律和光敏色素在短日植物临界夜长的测量中的作用,目前了解还不多。近年来的一些实验支持这样的假设:高等植物的光周期计时涉及到一个控制开花反应的昼夜节律的生物钟,它能被环境因子(如光)所调拨。在自然条件下,植物由光敏色素接收黎明的始光信号,启动这个光周期昼夜节律,在光下运行几小时后(如苍耳或牵牛约在5~6小时)到达一特殊相位点,此时植物如仍处于光下,节律就悬止在这一点上,当黄昏来临时,植物通过Pfr的一种快速热消失感受光辐照度降低至一阈值以下的灭光信号(light off signal),节律又重新继续运行一定时间后(约8~9小时),植物达到对光最敏感的时间,此时进行闪光处理能最有效地抑制短日植物开花而促进长日植物开花。

## (三)光周期信号的传递和性质

### 1. 光周期信号从叶片传递到茎尖分生组织

由于感受光周期的部位是叶片,而形成花的部位在茎顶端分生组织,在最初的感受部位和发生成花反应的部位之间存在着叶柄和一小段茎的距离,使人们想到,必然有信息自感受了光周期的叶片传导至茎顶端。前苏联学者Chailakhyan用嫁接实验来证实这种推测:将5株苍耳相互嫁接在一起,只要其中一株的一片叶接受适宜的短日光周期诱导,而其他植株都在长日照条件下,最后所有植株都能开花(图15-21)。这证明确实有刺激开花的物质通过嫁接在植株间传递并发挥作用。更令人感兴趣的是,不同光周期类型的植物嫁接后,在各自的适宜光周期诱导下,都能相互影响而开花。例如长日植物天仙子和短日植物烟草嫁接,无论在长日照或短日照条件下两者都能开花。将长日植物大叶落地生根在适宜光周期诱导下产生花序后将花序切去,把未经诱导的短日植物高凉菜嫁接在大叶落地生根的断茎上,置于长日照下,高凉菜可大量开花,但若作为砧木的大叶落地生根在嫁接前未经适宜光周期诱导,则嫁接在其上的高凉菜仍保持营养生长状态。这说明经过适宜光周期诱导的大叶落地生根体内确实形成了某种刺激开花的物质,并可通过嫁接传递到未经光周期诱导的高凉菜体内,使



图15-21 成花刺激物在嫁接植株间传递(Hopkins 1995)
一株植物被诱导开花,则几株靠接的植株都能开花,表明成花刺激物从诱导叶片传递至所有的植株。

它在非诱导的长日条件下也开花。这些实验使人们推测，长日植物和短日植物的成花刺激物质可能具有相同的性质。

利用环割或蒸汽处理叶柄或茎，干扰或阻止韧皮部的运输，可延迟或抑制开花，表明开花刺激物质传导的途径是韧皮部。Evans 用短日植物苍耳的去叶实验探讨成花刺激物质运输的速率。他在苍耳植株接受暗期诱导刚结束时，立即去掉叶片，则植株不能成花；而在暗期结束数小时后再去叶的植株就能开花，说明成花刺激物的合成需要一定的时间，如果叶片在植株上保留 1～2 天，则可获得最大的开花效果，可见也需要一定的时间将成花刺激物运出叶片。试验证明有些植物的成花刺激物运输的速度较慢，每小时几厘米；而有些植物可达几十厘米，相当于光合产物在韧皮部的运输速度。

**2. 成花刺激物或成花抑制物**

在诱导叶片中产生了什么信号？Chailakhyan 最早提出成花激素的假说：①感受光周期反应的器官是叶片，经诱导后产生促进开花的物质；②叶片中产生的特殊物质可向各方向运转，到达茎生长点引起各种变化；③不同植物的成花刺激物具有相似的性质；④植株在特定条件下产生的成花素（florigen）不是基础代谢过程中产生的一般物质。有大量的嫁接实验支持这一假说，肯定植物在经过适宜的光周期诱导后，产生了可传递的成花刺激物，但是对成花素的分析与鉴定并未得到肯定的结果。

1961 年 Lincoln 等人从开花的苍耳植株提取成花刺激物质，他们将粗提取物施于在长日照下生长的苍耳植株，可诱发约 50%的植株开花；从营养生长的苍耳植株提取的物质则没有诱导开花的活性。但是在进一步提纯这种物质时则活性丧失，因而未能鉴定此物质的性质。以后的一些试验重复了此结果，但是，均未得到预想的成花刺激物。

由于寻找成花刺激物的研究没有肯定的结果，人们认为，也不排除植物在非诱导条件下不能开花是由于叶片中存在某种成花抑制物的可能性。试验表明：长日植物天仙子、短日植物草莓和藜在非诱导光周期条件下不能开花，但是去掉全部叶片时，在任何日长下都能开花。但是在非诱导条件下存在的成花抑制物的性质也未能确定。

有的植物似乎既存在成花刺激物，又存在成花抑制物，如短日植物紫苏，处于长日照下时，对一片叶片进行遮光短日照处理，植株并不能开花，但是如果把其他叶片去掉，仅留一片叶片进行短日照处理，则植株开花，这表明在非诱导条件下的叶片中存在成花抑制物，去除抑制物后，诱导叶片中的成花刺激物才起作用而诱导开花。

**3. 甾类化合物与植物的成花诱导**

自 Butenandt 于 1933 年在植物体内发现雌酮以来，陆续在植物中发现了多种雌性激素、雄性激素等甾类化合物。近年来的研究证明甾类化合物确实在植物的成花诱导中起一定作用，如雌二醇能够促进甘蓝、菊苣、浮萍、西洋红等植物开花；在适宜的光周期条件下，短日植物白苏和红叶藜与长日植物天仙子的雌性激素含量都有所增加。这些都说明雌性激素与植物成花诱导过程密切相关。

外用甾类化合物处理也能促使某些植物开花。从经过长日处理的毒麦提取甾类化合物饲喂给培养在试管中的藜芽，可促进其开花；而从经过短日处理的毒麦中得到的提取物则无作用。分析从短日植物菊花中得到的提取物，发现其中对菊花和苍耳的花芽形成有效的组分类似于谷甾醇和豆甾醇。施用甾类化合物的生物合成抑制剂也能抑制花芽形成。但是至目前为止，并没有能明确哪种甾类化合物有普遍的诱导开花的作用。

**4. 植物激素在成花诱导中的作用**

经过长期的探索，仍然没有得到决定植物成花的所谓性激素或成花素。那么，已有的植物激素和植物的成花诱导有什么关系？在 5 类植物激素中，赤霉素（GA）影响成花的效应最大，GA 可促进多种 LDP 在短日照条件下成花，并可代替多种植物对低温的要求。进一步的研究发现，$GA_4$ 和 $GA_7$ 能更有效地促进高山勿忘我草和高雪轮等植物的成花，而 $GA_3$ 却没有作用。施用抗 GA 的 CCC 则抑制长

日植物开花。

生长素可抑制SDP成花，例如将苍耳插条浸入IAA溶液中，则其光周期诱导成花反应受到抑制；但用IAA极性运输的抑制剂三碘苯甲酸(TIBA)处理时，则又促进苍耳开花。相反，IAA促进一些LDP如天仙子、毒麦等的成花。

细胞分裂素能促进藜属、紫罗兰属、牵牛属和浮萍等SDP和LDP成花。不过紫罗兰属植物体内细胞分裂素含量的增加不是出现在光周期诱导过程中，而是在光周期诱导之后。乙烯能有效地诱导菠萝的成花。

脱落酸可代替短日照促使一些SDP在长日照条件下开花。如将ABA溶液喷于黑醋栗、牵牛、草莓和藜属的植物叶片，可使它们在长日照下开花。但是ABA却使毒麦、菠菜等LDP的成花受到抑制。并且，ABA抑制毒麦成花的时间是在花发育开始之时，抑制作用的部位是在茎尖而不是在叶片。

虽然已知的各类植物激素与植物的成花都有关系，但是，到目前为止尚未发现一种激素可以诱导所有光周期特性相同的植物在不适宜的光周期条件下开花，即使能诱导几十种植物在非诱导条件下成花的GA，也有相当多同类的植物对施用GA没有成花反应。所有这些现象，使人们感到困惑，目前有一种观点：植物的成花过程(包括花芽分化和发育)可能不是受某一种激素的单一调控，而是受几种激素以一定的比例在空间上(激素作用的部位)和时间上(花器官诱导与发育时期)的多元调控，植物的成花过程是分段进行的，在不同的阶段，可能有不同的激素起主导作用。因此，在不同的光周期条件下，是通过刺激或抑制各种植物激素之间的协调平衡来控制植物的成花的，在适宜的光周期诱导下或外施某种植物激素，可改变原有的激素比例关系而建立新的平衡，进而诱导与成花过程有关的基因的开启，从而调节成花。

## (四) 植物营养和成花

在20世纪初，Klebs通过大量试验证明，植物体内的营养状况可以影响植物的成花过程。他观察到植物体内碳水化合物与含氮化合物的比值高时，植物开花，而比值低时植物不开花，据此提出开花的碳氮比(C / N)理论。此后有人用番茄作试验，也证实决定番茄开花的是C/ N，这个比值高则开花，反之，则延迟或不开花。但是后来发现，C / N高促进开花的植物仅是某些长日植物或日中性植物，而对短日植物不适用。植物的成花是植物生长发育中的关键性转变过程，必然涉及到基因开启，用碳氮比学说显然不能很好地解释植物成花诱导的本质。但是，植物开花过程的实现确实也需要营养物质的保证，在农业生产上可以通过控制肥水来调节C / N比，从而控制营养生长和生殖生长，如水稻生育后期，如果肥水过大，引起C / N比值过小，营养生长过旺，生殖生长延迟，导致徒长、贪青晚熟；如果在适当的时期，进行落干烤田，提高C / N比，可促使苗壮、提早成熟。在果树栽培中，也可用环状剥皮等方法，使上部枝条积累较多的糖分，提高C / N比值，促进花芽分化，提高产量。

## (五) 温度和光周期反应的关系

在光周期现象中，光照是主导因素，但其他外界条件也有一定的作用，并且会影响植物对光照的反应，其中温度的影响最为显著。温度不仅影响光周期通过的时间，而且可以改变植物对日照的要求。

温度降低可以使长日植物在较短的日照下开花。例如，豌豆、黑麦、苜蓿、甘蓝等长日植物在较低的夜温下失去对日照长度的敏感而呈现出中间性植物的特征。甜菜通常只在长日照下开花，但在10～18℃的较低夜温下，8小时日照也能开花。对短日植物来说，降低夜温可以使其在较长日照下开花。如短日照品种的烟草在18℃夜温下需要短日照才能开花，而当夜温降低到13℃时，在16～18小

时的长日照下也能开花。牵牛在21～23℃下是短日性的，而在13℃低温下却表现为长日性。其他一些短日植物如苍耳、一品红等在较低温度下也表现出长日性。温度影响光周期反应的本质仍不清楚。

许多要求低温春化的植物在经过低温春化后还要求在长日照条件下才能开花，如冬性谷类作物和甜菜、白菜等二年生作物。

## 三、光周期理论在农业生产上的应用

### （一）植物的地理起源和分布与光周期特性

自然界的光周期决定了植物的地理分布与季节分布，从物种起源与进化的观点出发，植物对光周期反应的类型是对该地区自然光周期长期适应的结果。低纬度地区不具备长日条件，所以一般分布短日植物，高纬度地区的生长季节日照较长，因此多分布长日植物，中纬度地区则长短日植物共存。在同一纬度地区，长日植物多在日照较长的春末和夏季开花，如小麦；而短日植物如菊花等则多在日照较短的秋季开花。

事实上，由于自然选择和人工培育，同一种植物可以在不同纬度地区分布。例如短日植物大豆，从我国的东北到海南岛都有当地育成的品种，它们具有适应本地区日照长度的光周期特性。如果将我国不同纬度地区的大豆品种均在北京地区栽培，因日照条件的改变会引起它们的生育期随其原有的光周期特性而呈现出规律性的变化：南方的品种北移至北京时，由于得不到短日条件，致使开花推迟；相反，北方的品种南移至北京，因较早获得短日条件而使花期提前（表15-4）。这反映了植物与原产地光周期相适应的特点。

**表 15-4　我国南北各地大豆在北京种植时开花的情况**

| 原产地及约略纬度 | 广州 23° | 南京 32° | 北京 40° | 锦州 41° | 佳木斯 47° |
|---|---|---|---|---|---|
| 品种名称 | 番禺豆 | 金大 532 | 本地大豆 | 平顶香 | 满仓金 |
| 原产地播种期 | — | 5月下旬 | 4月30日 | 5月19日 | 5月17日 |
| 原产地开花期 | — | 8月23日 | 7月中旬 | 7月29日 | 7月5日 |
| 北京播种期 | 4月30日 | 4月30日 | 4月30日 | 4月30日 | 4月30日 |
| 北京开花期 | 10月15日 | 9月1日 | 7月19日 | 7月2日 | 6月5日 |
| 原产地播种到开花日数/d | — | 90 | 80 | 71 | 55 |
| 北京播种到开花日数/d | 168 | 124 | 80 | 63 | 36 |

### （二）引种育种

生产上常从外地引进优良品种，以获得优质高产。在同纬度地区间引种时，由于日照长度基本相同，温度差异也较小，只要土质、肥水等适宜，引种容易成功；但是在不同纬度地区间引种时，如果没有考虑品种的光周期特性，则可能会因提早或延迟开花而造成减产甚至颗粒无收。对此，在引种时首先应该了解被引进品种的光周期反应特性，是属于长日植物、短日植物或日中性植物；了解作物原产地与引种地生长季节的日照条件的差异；根据被引进作物的经济利用价值来确定引种的原则。短日植物从北方引种到南方，将提前开花，如需收获果实或种子，则应选择晚熟品种，而从南方引种到北方，则应选择早熟品种；长日植物从北方引种到南方时，将延迟开花，宜选择早熟品种，而从南方引种到北方时，应选择晚熟品种。

通过人工光周期诱导，可以加速良种繁育、缩短育种年限。如在进行甘薯杂交育种时，人为地缩短光照，使甘薯开花整齐，以便进行有性杂交，培育新品种。根据我国气候多样的特点，可进行作物的

南繁北育:短日植物水稻和玉米可在海南岛加快繁育种子;长日植物小麦夏季在黑龙江、冬季在云南种植,可以满足作物发育的光照和温度的要求,一年内可繁殖2~3代,加速育种进程。

具有优良性状的某些作物品种间有时花期不遇,无法进行有性杂交育种。通过人工控制光周期,可使两亲本同时开花,便于进行杂交。如早稻和晚稻杂交育种时,可在晚稻秧苗4~7叶期进行遮光处理,促使提早开花以便和早稻进行杂交授粉,培育新品种。

### (三)调节营养生长和生殖生长

对以收获营养体为主的作物,可通过控制光周期抑制其开花。如短日植物烟草,原产热带或亚热带,引种至温带时,可提前至春季播种,利用夏季的长日照及高温多雨的气候条件,促进营养生长,提高烟叶产量。对于短日植物麻类,南种北引可推迟开花,使麻杆生长较长,提高纤维产量和质量,但不利于留种。此外,利用暗期光间断处理可抑制甘蔗开花,从而提高产量。

在园艺花卉栽培中,已经广泛地利用人工控制光周期的办法来提前或推迟花卉植物开花。例如,菊花是短日植物,在自然条件下秋季开花,若给予遮光缩短光照处理,则可提前至夏季开花,满足城市园林美化的需求。而对于某些需长日照的花卉植物,如杜鹃、山茶花等,进行人工延长光照处理,就可提早开花。

## 小　　结

光形态建成指光对植物发育的特殊效应,是区别于光合作用的光信号反应。植物体内存在的光受体有光敏色素、隐花色素和紫外光-B受体等几类。光敏色素有Pr和Pfr两种形式,其中Pfr是生理活跃形式,通过信号转导启动生理反应。两种形式光敏色素在R或FR照射下发生可逆转换,所以,光敏色素介导的反应通常是R-FR可逆反应。由多基因家族编码的光敏色素分为类型Ⅰ和类型Ⅱ两类,*PHYA*基因编码的类型Ⅰ光敏色素大量存在于黄化组织中,因其Pfr不稳定,在光下生长的植物中,含量很低;类型Ⅱ光敏色素由*PHYB*、*PHYC*、*PHYD*、*PHYE*基因编码,低水平表达,在光、暗条件下生长的植物中都低水平存在,但其Pfr稳定。光敏色素反应可分为VLFR、LFR和HIR几类,它们对光量要求和持续时间不同,其作用光谱和光可逆性也有区别。光敏色素通过影响膜性质而诱导一些快速反应,如转板藻叶绿体运动、叶片感夜运动等;光敏色素调节Rubisco小亚基、叶绿素a/b结合蛋白等许多基因的转录,甚至对自身*PHYA*的基因转录的抑制。对其信号传递的研究正在逐步深入。

植物的许多形态建成受蓝光和紫外光调控,如向光性、色素合成、下胚轴伸长的抑制等。蓝光调节基因表达等作用的分子机理尚在研究中。

植物在生长达到一定生理状态时,能感受特定环境条件的诱导,特别是光周期信号,经过传导,启动成花转变过程中的控制基因,发生一系列生理生化及形态建成变化,最终导致开花。不同地区的植物适应日照长度的季节周期性变化,表现不同的光周期成花诱导类型。在昼夜光暗交替中,暗期长度对植物的成花起决定作用,短日植物的成花要求长于某临界值的连续暗期,长日植物则相反。植物成花的光周期反应是一种诱导效应,叶片接受光周期信号,经特殊物质传导到发生花芽分化的茎生长点,在那里发生成花反应。光敏色素在植物对光的感受和光周期时间测量中起重要作用。同时,植物的光周期计时也涉及昼夜节律的生物钟。植物成花生理的理论在农业生产上具有重要意义并已广泛应用于实践中。

**思考题**

(1) 名词解释:黄化现象和光形态建成,光敏色素,光周期现象,临界日长与临界暗期,光周期诱导。

(2) 光形态建成对于植物有何重要意义？

(3) 植物光形态建成的受体有哪几类？各有什么特点？

(4) 光敏色素区别于其他色素的主要特征是什么？

(5) 简要说明光敏色素调控植物发育的作用机理。

(6) 什么是光周期现象？举例说明植物的主要光周期类型。

(7) 用实验证明植物感受光周期的部位，并证明植物可以通过某种物质来传导光周期刺激。

(8) 南麻北种有何利弊？为什么？

(9) 试述你对成花激素的看法。

(10) 用实验说明暗期和光期在植物成花诱导中的作用。

(11) 在植物的光周期成花反应中，植物可能以什么方式来测量暗期的长度？

(12) 举例说明光周期理论在农业实践中的应用。

# 第十六章　温度对植物发育的调控作用

## 第一节　植物生长发育的温周期

### 一、温度对植物生长和分布的影响

温度是植物生长的最重要环境条件之一，影响植物整个生命周期的各个发育阶段，从种子萌发、幼苗的营养生长、生殖生长至成熟和休眠，包括每一个酶反应、每一种代谢功能，影响细胞结构的完整性，特别是影响膜的结构和性质，直接关系到植物的生存。植物的所有生理过程都是在一定的温度范围内进行的，温度和其他环境因子之间又存在复杂的关系，共同调控植物的发育。植物分布的地域性和生长的季节性也在相当程度上决定于温度，极端的温度也是危害植物的主要胁迫环境。

从0℃以下到50℃都有植物生活，甚至在温度高达80℃的温度泉中，细菌和蓝绿藻还能生活。能维持植物生命的最低和最高温度可称为生存的最低温度和最高温度，二者合称为生存的极限温度。不同地区生长的不同植物生存的极限温度有很大的差别，一般北方品种的生存最低温度比南方品种低。植物能生长的温度比能生存的温度范围要小得多，在某些温度条件下，植物也许能活着，但不一定能生长。由于温度影响酶活性及各生化反应，也影响植物的光合作用、呼吸作用、水和离子的吸收与运输、同化物的运输与分配等生理过程，所以，温度对生长的影响是对一系列生理过程影响的综合效应。因此，植物生长对温度的要求更严格，植物能生长的最低、最适和最高温度，称植物生长的温度三基点(cardinal temperature)(表16-1)(图16-1)。植物生长的温度三基点也因其原产地不同而有很大的差异，原产热带或亚热带的植物，生长的温度范围较高，其最低、最适和最高温度分别在10℃、30～35℃和45℃左右；原产于温带的植物，其温度三基点约为5℃、25～30℃和35～40℃；原产于寒带的植物，在0℃以下仍能生长，其最适温度也仅在10℃左右。同一植物的不同器官或不同生育期，对温度的要求也不一样，适于根系生长的温度一般较地上部低，如棉花根伸长的最适温度在二十几摄氏度，而其地上部生长的最适温度却在三十几摄氏度。植物的温度三基点也随植物的生育期而不断变化，与自然界气温变化相吻合。

**表16-1　几种常见作物的生长温度三基点/℃**

| 作物 | 最低温度 | 最适温度 | 最高温度 |
|---|---|---|---|
| 小麦、大麦 | 0～5 | 25～30 | 31～37 |
| 向日葵 | 5～10 | 31～35 | 37～44 |
| 玉米 | 5～10 | 27～33 | 40～50 |
| 大豆 | 10～12 | 27～33 | 33～40 |
| 水稻 | 10～12 | 30～32 | 40～44 |
| 南瓜 | 10～15 | 37～40 | 44～50 |
| 棉花 | 15～18 | 25～30 | 31～38 |

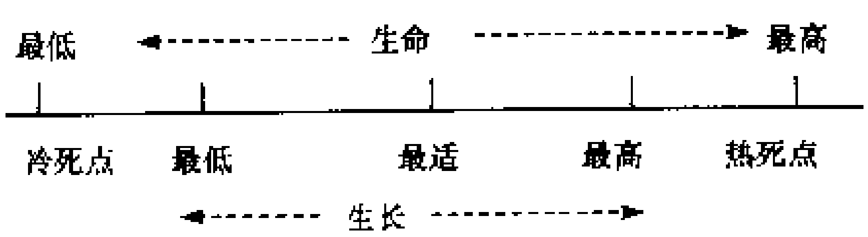



图16-1　生长的温度三基点与生命的极限温度的关系

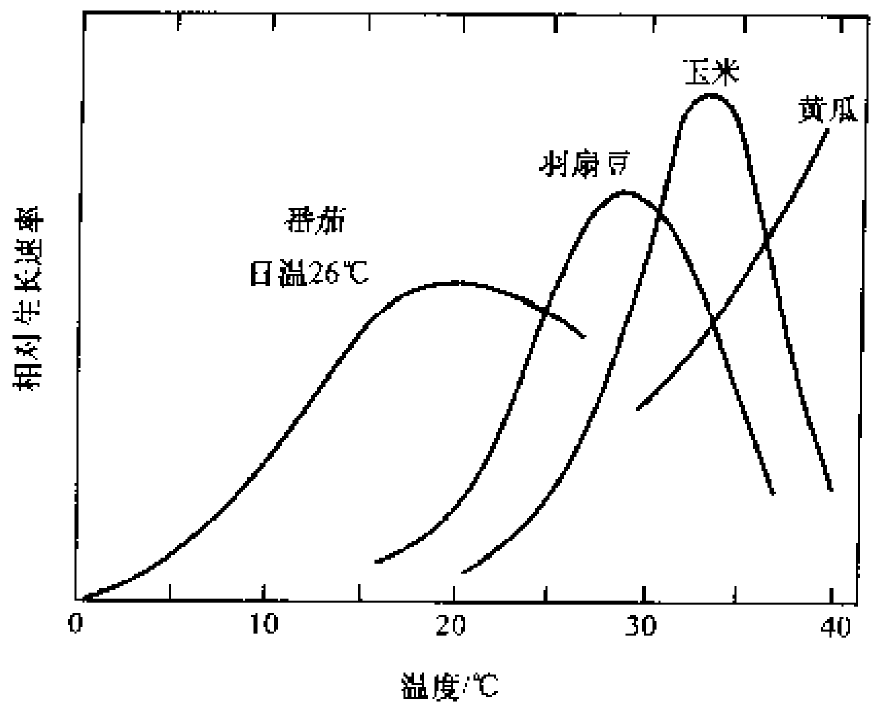



图 16-2 温度对几种植物生长的效应(Salisbury & Ross 1992)
图示番茄在日温 26℃下不同夜温的影响。

植物的生长对温度较敏感,温度变化几度就会导致生长速率的明显变化。在一定范围内,植物生长过程随温度升高而加快,但超过一定范围的温度下,生长反而会下降。植物生长最快的温度是植物生长的最适温度(图 16-2)。在这样的温度下,植物生长得虽然快却不一定健壮,由于消耗物质多,幼苗长得细长柔弱,稍有不利环境则受到损伤,如冬小麦在越冬时生长过旺,抗寒性降低,反而易受低温伤害。所以,植物在比最适温度稍低的温度下,生长反而更健壮,这个温度称协调最适温度。

栽培作物时,应根据作物生长的温度要求和当地气候条件确定播种时期,尤其是从远地引种,更应注意该品种对温度的适应特性。

## 二、植物生长发育的温周期现象

在自然条件下,温度呈昼夜和季节的周期性变化,植物适应这种变化而节奏性地生长。通常将植物对季节或昼夜温度变化的反应称为生长的温周期现象(thermoperiodicity of growth)。一般来说,在春夏季植物的生长速率白天较慢,因为白天温度高,蒸腾量大,光照强抑制生长;而夜间生长较快,呈现昼夜的周期性变化。试验证明,植物在昼夜变化的温度条件下生长得更好。例如,番茄在昼温 23～26℃,夜温 18℃左右条件下生长最好,产量也最高(图 16-2),但在 26℃的恒定温度下,却生长不好,甚至不能结实。

许多块根、块茎作物都是在昼夜温差大的条件下生长较好。如马铃薯在我国北方地区昼夜温差大的条件下,如日温 20℃和夜温 10～14℃时,块茎产量高,品质也好。主要原因是白天温度较高,光合速率高,合成更多的有机物质;夜间温度较低使呼吸速率降低,有机物消耗相对较少,有利于干物质积累,促进生长,较低温度也有利于根的发育和合成细胞分裂素,提高根冠比,特别是有利于物质向根部输送,利于块根、块茎的生长和膨大。反之,如夜温过高导致消耗增加,有机物质积累减少。因此,温室栽培植物,尤应注意夜间适当降温,以利培育壮苗。

地球上的光照、温度和雨量呈季节周期性变化,特别是温带地区四季分明。植物能在某一地区生长繁衍,它的生活史必然和这个地区气候条件的周期性变化相吻合,表现出营养生长的季节周期性。许多一年生植物在春季播种,在光照与温度信号刺激下,种子萌发,幼苗随温度逐渐升高而旺盛生长,至夏秋开花结实;或夏秋季生长,日照缩短与温度逐渐降低的信号使代谢活动下降,生长减慢,贮存物质,在冬季低温来临之前,进入休眠。多年生树木叶片的春发秋落,叶片、花、果实和种子的交互生长,也是对所生长环境中的温度、光照、水分等因素的季节周期性变化的适应。

树木的径向生长,一般在春夏季温度适宜时,细胞分裂快、细胞体积较大、形成颜色较浅的带;而秋冬季时细胞较小而壁厚,色较深,年复一年,构成一圈圈年轮,这也是植物生长的季节周期性的表现。

# 第二节　春化作用

## 一、春化作用的概念和反应类型

### （一）春化作用的概念

作物的生长发育进程和温度的季节变化相适应。一些作物在秋季播种，冬前经过一定的营养生长，然后度过寒冷的冬季，在第二年春季重新旺盛生长，于春末夏初开花结实。而将秋播作物春播，则不能开花或延迟开花。早在 1918 年 Garssner 在用冬黑麦进行试验时发现，冬黑麦在萌发期或苗期必须经历一个低温阶段才能开花，而春黑麦则不需要。在一些高寒地区，因严冬温度太低，无法种植冬小麦，1928 年 Lysenko 将吸水萌动的冬小麦种子进行低温处理后春播，可在当年夏季抽穗开花，他将这种处理方法称为春化，意指使冬小麦春麦化了。这种低温诱导促使植物开花的作用叫春化作用（vernalization）。如没有经过低温处理，这类植物维持营养生长状态或延迟开花。另如甘蓝、天仙子等植物，如不经过低温，则茎不伸长而呈莲座状。我国北方农民早就应用春化处理来进行冬麦春播或春季补苗，如“闷麦法”，即是将吸胀萌动的冬小麦种子闷在罐中，放在 0～5℃低温下 40 ～50 天，即可用于春季补种。除了冬小麦、冬黑麦、冬大麦等冬性禾谷类作物以外，某些二年生植物，如白菜、萝卜、胡萝卜、芹菜、甜菜、甘蓝和天仙子等，以及一些多年生草本植物（如牧草）也需要低温春化，这些植物通过低温春化后，还要在较高温度下生长一段时间，并且许多植物还要求在长日照条件下才能开花。因此，春化过程只是对开花起诱导作用。

### （二）植物对低温反应的类型

植物开花对低温的要求大致有两种类型。一类植物对低温的要求是绝对的，二年生和多年生草本植物多属于这类，它们在头一年秋季长成莲座状的营养植株，并以这种状态过冬，经过低温的诱导，于第二年夏季抽薹开花。如果不经过一定天数的低温，就一直保持营养生长状态，绝对不开花。另一类植物对低温的要求是相对的，冬小麦等许多冬性植物，低温处理可促进开花，未经低温处理的植株虽然营养生长期延长，但是最终也能开花。它们对春化作用的反应表现出量的需要，随着低温处理的时间加长，到抽穗需要的天数逐渐减少，未经低温处理的，达到抽穗的天数最长。

各种植物在系统发育中形成了不同的特性，所要求的春化温度不同，根据原产地的不同，可将小麦分为冬性、半冬性和春性三种类型。我国华北地区的秋播小麦多为冬性品种，黄河流域一带多为半冬性品种，而华南一带一般为春性品种。不同类型小麦所要求的低温范围和时间都有所不同，一般来说，冬性愈强，要求的春化温度愈低、春化的天数愈长（表 16-2）。

**表 16-2　不同类型小麦通过春化需要的温度及天数**

| 类型 | 春化温度范围/℃ | 春化天数/d |
| --- | --- | --- |
| 冬性 | 0～3 | 40～45 |
| 半冬性 | 3～6 | 10～15 |
| 春性 | 8～15 | 5～8 |

## 二、植物通过春化的条件

### （一）低　　温

低温是春化作用的主要条件。有效温度的范围和低温持续的时间随植物的种类和品种而不同。对大多数要求低温的植物来说，1～2℃是最有效的春化温度，但只要有足够的时间，在－3～10℃范围内都有效。各类植物通过春化要求低温条件的时间长短也有所不同，在一定的期限内春化的效应随

低温处理时间的延长而增加(图 16-3，16-4)。

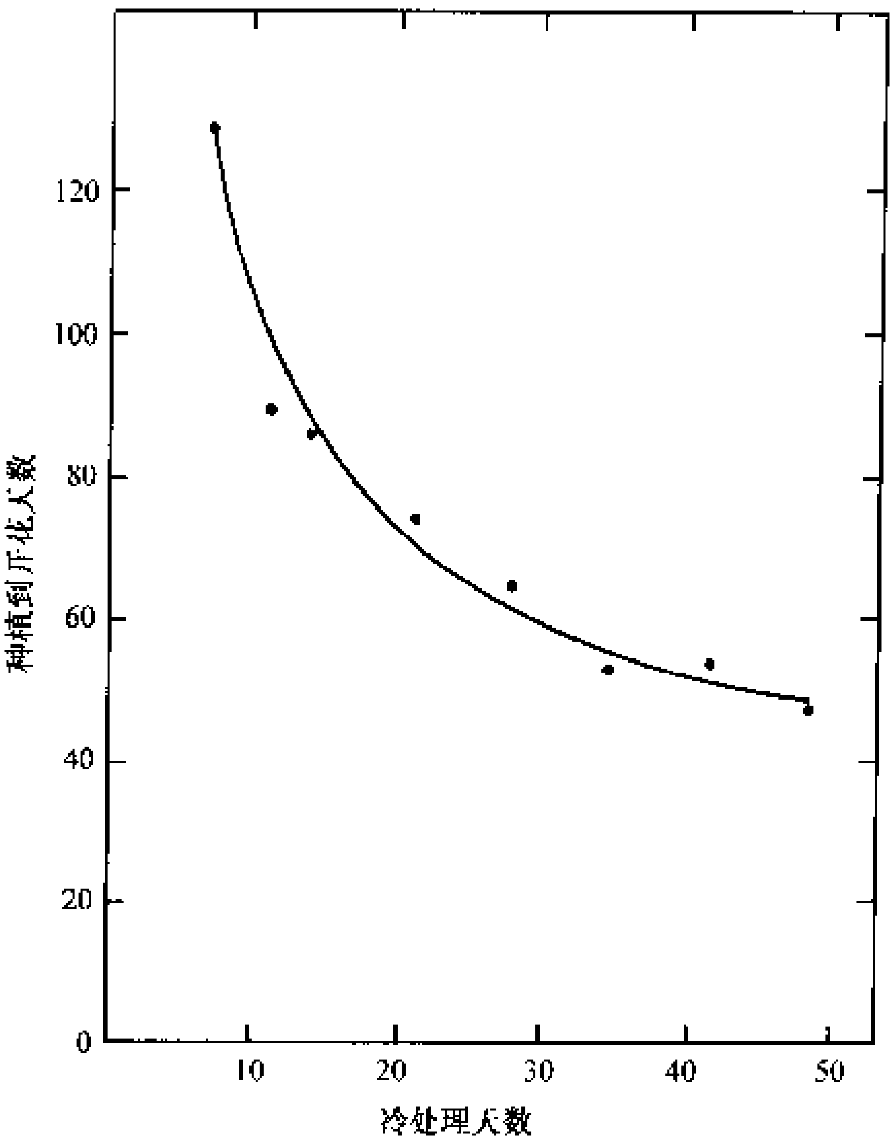



图 16-3　春化天数对冬黑麦开花的影响(Hopkins　1995)
种子在湿沙中 1℃处理不同天数后温室生长随冷处理加长从种植到开花时间缩短。

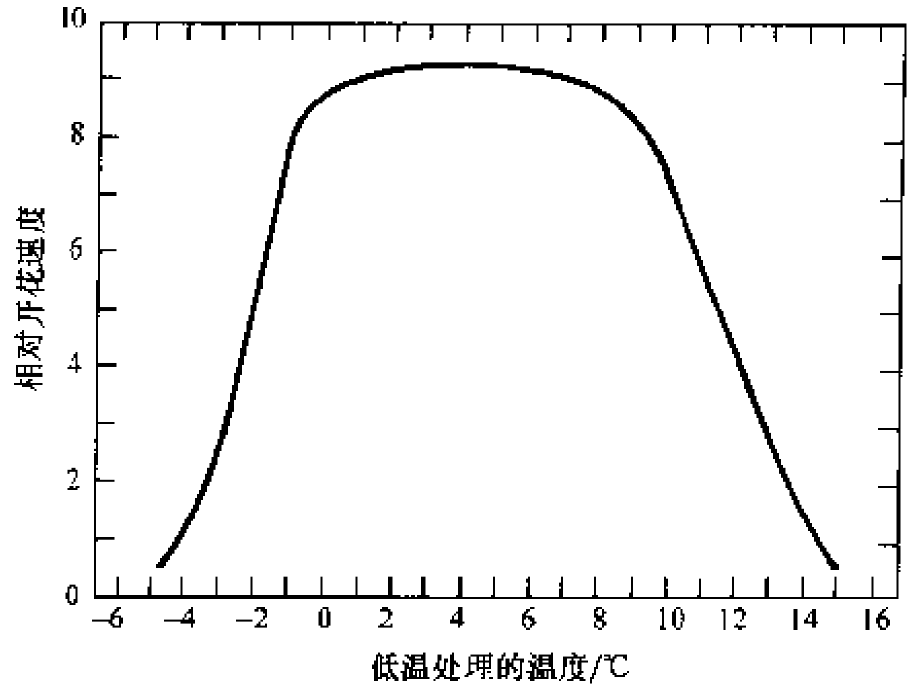



图 16-4　相对开花反应和春化期间温度的关系
(Salisbury & Ross　1992)

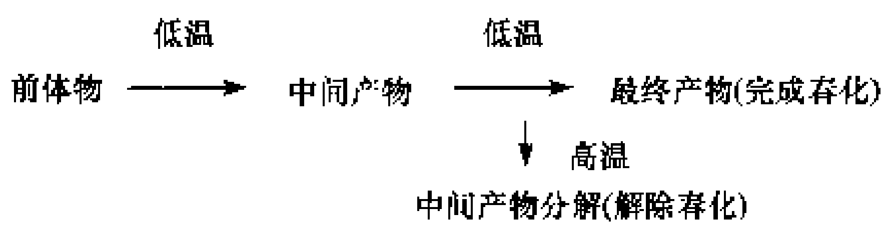



图 16-5　植物的春化和解除春化假说

在植物春化过程结束之前，如将植物放到较高的生长温度下，低温的效果被减弱或消除，这种现象称去春化作用(devernalization)或解除春化。一般解除春化的温度为 25～40℃，如冬小麦在 30℃以上 3～5 天即可解除春化。通常植物经过低温春化的时间愈长，则解除春化愈困难，当春化过程结束后，春化效应就是稳定的，不会被高温解除。大多数去春化的植物返回到低温下，又可重新进行春化，而且低温的效应是可以累加的，这种解除春化之后，再恢复春化的现象称再春化现象(revernalization)。对于解除春化现象的本质，Melchers 和 Lang 提出图 16－5 所示假说。

## (二)水分、氧气、营养和光照

春化作用除了需要一定时间的低温外，还需要适量的水分、充足的氧气和作为呼吸底物的营养物质。试验表明，将已萌动的小麦种子失水干燥，当其含水量低于 40%时，用低温处理种子也不能通过春化。在缺氧条件下，即使满足低温和水分的要求，仍不能完成春化，实验观察到，在春化期间，细胞内某些酶活性提高，氧化还原作用加强，呼吸作用增强，充足的氧气是进行生理生化活动的必要条件。不仅高温可以解除春化，缺氧也有同样效果。通过春化时需要足够的营养物质，将小麦种子的胚培养在富含蔗糖的培养基中，在低温下可以通过春化，若培养基中缺乏蔗糖，则不能通过春化。

此外，许多植物在感受低温后，还需经过长日照诱导才能开花。如天仙子植株，在较高温度下不

能开花，经低温春化后放在短日照下，也不能开花，只有经低温春化后再处于长日照条件下的植株才能抽薹(bolting)开花(图 16-6)。




图 16-6　莲座植物天仙子抽薹开花对温度和日照的反应，只有低温处理后长日照能诱导开花

## 三、春化作用的机理

### （一）春化刺激的感受和传递

**1. 感受低温的时期和部位**

一般植物在种子萌发后到植物营养体生长的苗期感受低温而通过春化。冬小麦、冬黑麦等一年生冬性植物除了在营养体生长时期外，种子吸胀萌动时就能进行春化，在萌发早期胚迅速进行细胞分裂时对低温非常敏感。但如胡萝卜、甘蓝和芹菜等只有在幼苗长到一定大小时才能感受低温而通过春化。

试验表明，不同植物感受低温的部位不同。冬黑麦离体的胚在含蔗糖的培养基上就能接受低温诱导。芹菜等幼苗感受低温的部位是茎尖生长点，栽培于温室中的芹菜，只对茎尖生长点进行低温处理，甚至离体茎尖接受低温，就能通过春化；但是如果芹菜栽培在低温条件下，而茎尖却给予 25℃左右的较高温度，植株则不能通过春化。某些植物的叶片感受低温的部位在可进行细胞分裂的叶柄基部，如椴花的叶柄基部在适当低温处理后，可培养再生出花茎，但如将叶柄基部 0.5cm 处切除，再生的植株则不能形成花茎。一般认为，植物春化作用感受低温的部位是分生组织和某些能进行细胞分裂的部位。

**2. 春化效应的传递**

春化效应是否能传递，有关的试验得到两种完全相反的结果。将菊花已春化植株和未春化植株顶芽嫁接，未春化植株不能开花，如将春化后的芽移植到未春化的植株上，则这个芽长出的枝梢将开花；但是将未春化的萝卜植株顶芽嫁接到已春化的萝卜植株上，该顶芽长出的枝梢却不能开花。这些实验结果说明，植物完成了春化的感应状态只能随细胞分裂从一个细胞传递到另一个细胞，传递时应有 DNA 的复制。但用天仙子做的实验结果表明，可以通过嫁接经某种特殊物质传递春化效应，诱导未被春化的植株开花，甚至将已春化的天仙子枝条嫁接到烟草或矮牵牛植株上，这两种植物都开了花，说明通过低温处理的植株可能产生了某种可以传递的物质，并通过嫁接传递给未经春化的植株，而诱导其开花，但是，这种情况是少数的，而且至今未分离鉴定出这类物质来。

### （二）春化的分子基础

植物发育的每一时期中，都伴随着特异基因的表达。作为植物成花决定过程之一的春化作用亦

是一个受基因控制的多步骤的生理过程，春化处理必然促使冬小麦幼芽内某些特定基因表达或抑制，导致了基因表达格局的永久改变。研究指出，在春化过程中，核酸、特别是 RNA 含量增加，而且有新的 mRNA 合成。从经过 60 天春化处理的冬小麦麦苗中提取出来的染色体主要合成沉降系数大于 20S 的 mRNA，而从在常温下萌发的冬小麦麦苗中得到的染色体主要合成 9～20S 的 mRNA。提取春小麦和经春化处理的冬小麦幼芽中的 mRNA，通过麦胚系统进行体外翻译，得到几种多肽，而未经春化处理的冬小麦则不能翻译出这些多肽。遗传学分析表明，在冬小麦中至少有 4 个基因控制着春化特性，它们是 *Vrn1*、*Vrn3*、*Vrn4*、*Vrn5*，分别定位于 5A、5B、5D 染色体长臂和 7B 染色体短臂上；在拟南芥中观察到 5 个对春化敏感的基因；而豌豆中至少有 8 个基因控制开花过程。低温处理可使拟南芥晚花品系提早开花，未春化植株用 DNA 去甲基化试剂 5-氮胞苷处理则提前开花，而不要求春化的品系对 5-氮胞苷无反应，因此可以认为，在低温下去甲基化后得以表达的某些基因控制着开花。

某些特定基因被诱导活化后，促进了特异的 mRNA 和新的蛋白质合成，经过低温处理的冬小麦种子中游离氨基酸和可溶性蛋白质含量增加，经春化处理的冬小麦有新的蛋白质谱带出现，而未经低温处理的幼苗体内没有这些蛋白质，表明这些蛋白质是低温诱导产生的；而在春小麦幼苗中这些蛋白质的存在并非低温诱导的产物；将进行春化的冬小麦幼芽置高温下进行去春化处理，播种后生长的植株不能抽穗开花，检测发现原来经低温诱导产生的那些蛋白质消失。在冬小麦春化过程结束后，再经高温处理，蛋白质没有消失，也不影响植株的抽穗开花。在低温诱导下产生的这些新的蛋白质在植物体内的存在是生长点可进行穗分化的前提条件之一。

在春化过程中，各种代谢发生了变化。例如，冬性谷类作物细胞内的氧化酶系统发生动态变化，在前期以细胞色素氧化酶类起主导作用，随着低温处理时间的加长，细胞色素氧化酶活性逐渐降低，而抗坏血酸氧化酶的活性不断提高。这些酶活性的交替动态变化说明在春化过程中呼吸代谢过程的复杂性。

### （三）春化素、赤霉素和其他生长物质与春化作用

Melchers 和 Lang 等曾做过许多嫁接实验以研究春化效应的传递。将已春化的二年生天仙子枝条嫁接在未春化的植株上，结果未春化的植株开了花，因而推测在春化的植株中产生了某种开花刺激物，并可传递到未春化的植株而引起开花。他们将这种物质命名为春化素（vernalin），已有许多存在这种物质的证据，但至今未能被分离鉴定出来，而且在某些植物中，如菊花嫁接实验并不能证明开花刺激物从已春化的植株传递到未春化的植株中。

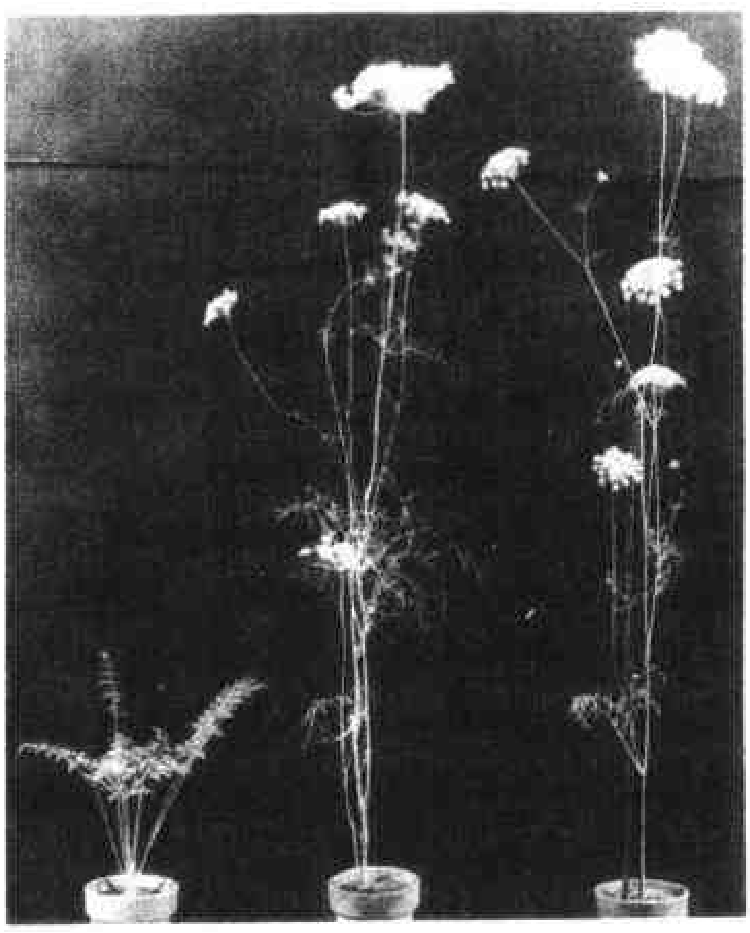


图 16-7　外用 GA 对胡萝卜开花的诱导
（Salisbury & Ross　1992）
左，未经低温处理的对照；中，未经低温，但每天在茎尖加 10μgGA，共 8 周；右，低温处理 8 周。

许多需春化的植物，如二年生天仙子、白菜、甜菜和胡萝卜等不经低温处理则只长莲座状的叶丛，不能抽薹开花，但赤霉素（GA）处理却可使这些植物不经低温处理就能开花（图 16-7）（表 16-3）；一些植物（油菜、燕麦等）经低温处理后，体内 GA 含量较未处理的多；冬小麦的 GA 含量原来比春小麦低，但经低温处理后体内 GA 含量增高到春小麦的水平；用 GA 生物合成的抑制剂处理植株会对春化起抑制效应。这些结果都表明 GA 与春化作用有关，是否 GA 就是所寻找的春化素？研究结果表明：GA 并不能诱导所有需春化的植物开花；植物对 GA 的反应也不同于低温诱导，被低温诱导的植物抽薹时

就出现花芽，而GA虽可引起多种植物茎伸长或抽薹，但不一定开花。一般认为，茎的伸长和花的形成是各自独立的发育过程。

**表 16-3 非诱导条件下经 GA 处理可以开花的植物**

| 需低温的植物 | 长日植物 |
|---|---|
| 芹菜（*Apium graveolens*） | 苦苣菜（*Cichorium endivia*） |
| 燕麦（*Avena sativa*） | 一年生天仙子（*Hyoscyamus niger*） |
| 雏菊（*Bellis Perennis*） | 莴苣（*Lactuca sativa*） |
| 甜菜（*Beta vulgaris*） | 罂粟（*Papaver somniferum*） |
| 甘蓝（*Brassica oleracea*） | 矮牵牛（*Petunia hybrida*） |
| 胡萝卜（*Daucus carota*） | 萝卜（*Raphanus sativus*） |
| 毛地黄（*Digitalis purpurea*） | 金光菊（*Rudbeckia bicolor*） |
| 二年生天仙子（*Hyoscyamus niger*） | 高雪轮（*Silene armeria*） |
| 紫罗兰（*Matthiola incana*） | 菠菜（*Spinacia oleracea*） |

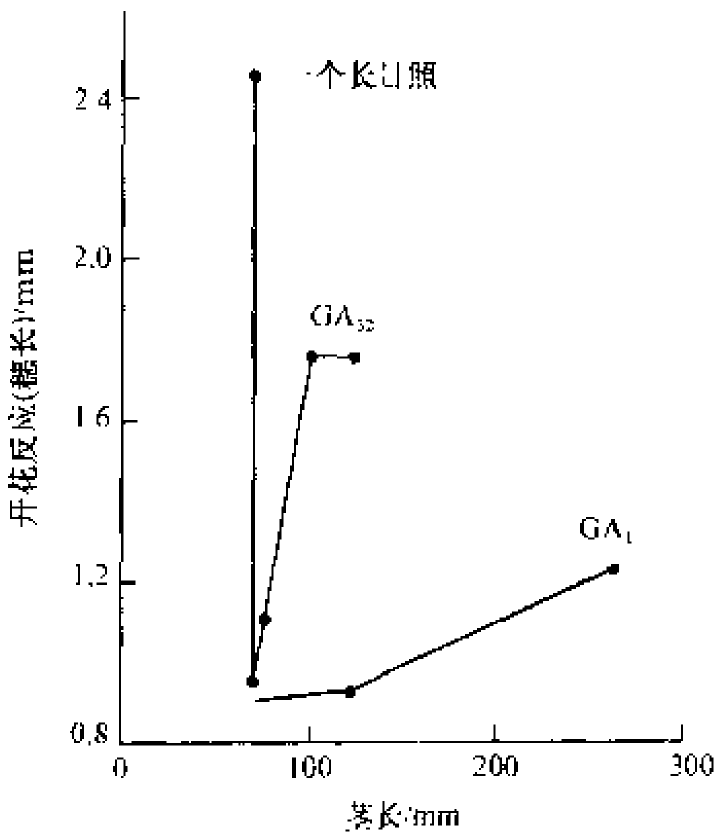



图 16-8 两种 GA 对 LDP 毒麦开花和茎伸长的不同效应（Taiz & Zeiger 1998）

$GA_{32}$有效促进开花但对茎伸长效应很小；$GA_1$ 有效促进茎伸长但对开花效应很小，GA 处理的植物放在短日照下，一个 21h 长日照即强烈促进对照植株开花。

不同的 GA 对植物茎伸长和开花的效应有很大的差别，如图 16-8 所示，对于长日植物毒麦，$GA_{32}$明显促进开花，但对茎伸长的作用很小；$GA_1$ 促进茎伸长而对开花的效应小；相比较看，一个长日照周期的诱导开花效果最好，却没有引起茎的伸长。LDP 菠菜在短日照下，体内 GA 水平低，植物保持莲座状。将植株转到长日照下后，GA 的 13-羟基化途径活跃，$GA_1$ 增加 5 倍，导致伴随开花的茎伸长，但还不知道是否有其他对诱导开花专一的 GA 在起作用。从分子机理上看，GA 能代替植物对低温的要求，是否编码 GA 生物合成中的酶的基因在春化过程中发生了去甲基化，使这些酶的基因得以表达，合成 GA，再进一步诱导了开花的必要变化。

近些年的研究发现，在高等植物体内普遍存在一种微量生理活性物质——玉米赤霉烯酮（zearalenone），在春化过程中植物体内出现玉米赤霉烯酮含量的高峰，外施玉米赤霉烯酮有部分代替低温的效果，其在植物春化中的调控作用有待进一步研究。

## 四、春化作用在农业生产上的应用

### （一）人工春化处理

农业生产上对萌动的种子进行人为的低温处理，使之完成春化作用的措施称为春化处理。我国农民创造的“闷麦法”即可用于在春天补种冬小麦；在育种工作中利用春化处理，可以在一年中培育3～4代冬性作物，加速育种过程；为了避免春季“倒春寒”对春小麦的低温伤害，可以对种子进行人工

春化处理后，适当晚播，同时可提早成熟。

### （二）调种引种

不同纬度地区的温度有明显的差异，我国北方纬度高，温度低，南方纬度低而温度高。在南北方地区之间引种时，必须了解品种对低温的要求，北方的品种引种到南方，就可能因当地温度较高而不能满足它对低温的要求，致使植物只进行营养生长而不开花结实，造成不可弥补的损失。

### （三）控制花期

在园艺生产上可用低温处理促进石竹等花卉的花芽分化，低温处理还可使秋播的一、二年生草本花卉改为春播，当年开花；利用解除春化控制某些植物开花，如越冬贮藏的洋葱鳞茎在春季种植前用高温处理以解除春化，防止它在生长期抽薹开花而获得大的鳞茎，增加产量；我国四川省种植的当归为二年生药用植物，当年收获的块根质量差，不宜入药，需第二年栽培，但第二年栽种时又易抽薹开花而降低块根品质，如在第一年将其块根挖出，贮藏在高温下而使其不通过春化，就可减少第二年的抽薹率而获得较好的块根，提高产量和药用价值。

# 第三节　植物的休眠

地球上的多数地区有季节变化，尤其是温带地区，在日照、温度、雨量上都有很明显的季节差异。并不是所有季节都适合所有植物的生长，植物的发育一定要和环境条件相协调，要能预测气候的变化，植物在系统发育过程中，形成了适应多变环境的机制，在周期性的恶劣环境因子来临之前，植物以某些器官或整株植物进入生长暂时停顿的状态，以安全度过逆境，延存生命及繁衍后代。一般植物的生命总是旺盛生长和暂时停顿周期性交替，一代又一代地延续。休眠(dormancy)是植物生长暂时停顿的一种状态。但绝不是简单的停顿，而是一种精密的调节，这种调节使植物的活动和季节同步，在最适合的季节生长，而在不利的条件下休眠以利于存活；通过休眠时间长短的调节可扩大植物萌发时间范围，一批一批萌发，因而增加植物生存的潜势；各种种子对不同的特殊信号起反应而打破休眠得到生存的条件；种子休眠也是一种防止动物食用后被消化的方式，同时巧妙地利用经过消化道的作用解除抑制而萌发。因此休眠是植物积极主动适应环境变化、维持生存的调节功能，已构成了植物的遗传特性。一般野生植物种子休眠现象很普遍，而栽培作物的休眠程度差一些。在生产上，种子休眠可避免在母体上萌发而造成产量损失；休眠的种子或其他休眠器官便于贮藏和保存种质资源；而播种前又要对仍处于休眠状态的种子进行适当的处理，以促进萌发。

启动休眠的环境信号是什么？植物如何接收这些信号？在植物休逐渐降低生命活动过程中，发生了哪些代谢变化？又是什么信号使植物在合适的时候从休眠中解放出来，启动新的生长？

## 一、休眠的器官和类型

很多一、二年生植物以种子为休眠器官，刚成熟的种子不一定能萌发，要经历一段时间干燥或低温条件下贮藏后才能萌发，即种子处于休眠状态。另一些植物以营养器官休眠。多年生落叶树以休眠芽为休眠器官，许多层鳞片保护着芽，避免水分丢失和低温伤害，以安全过冬。多年生草本植物在不良环境到来之前，地上部分死亡，地下部分形成变态器官，如鳞茎、球茎、块根或块茎进入休眠。无论是种子或其他休眠器官都有较强的抗逆性，使植物能躲避干旱、高温或低温等不良环境，以利于延续生命。

休眠有两种类型，一种是植物自身发育进程控制的休眠，即使给予充足的水分、氧气与适宜的温

度等生长条件，它们也不能萌发生长。如刚收获的大麦、水稻等的种子只有在干燥贮藏一段时间后，才能萌发。显然，这不是由于外部条件不充分，而是由于种子自身内在的生理原因造成的休眠，称为生理休眠，或深休眠。另一种是当植物在生育期内遇到低温、干旱等不利条件时，生长被迫处于极其缓慢或短暂静止状态，这种休眠称强迫休眠(imposed dormancy)，如给予适宜条件，种子即可萌发，植株又开始恢复生长。如原产于热带和亚热带的常绿树始终处于生长或强迫休眠状态，即快速生长或极缓慢生长交替。

## 二、休眠的诱导

### （一）环境因子对休眠的诱导

植物进入休眠受内在发育程序控制，但常是环境中的光照、温度等因子作为信号启动或调节一定的发育程序诱导休眠。

植物营养体进入休眠主要与光照，尤其是与日照长度有关。多数冬季休眠的植物，在长日照下旺盛生长，而短日照抑制生长，促进休眠芽形成。也要求满足临界日长和一定的短日照天数。例如，美国鹅掌楸在10天的8小时短日照下就停止生长；而湿地槭需8周，美国槭则需20周。秋季的短日照是使许多植物进入休眠的信号，植物枝条生长减慢，出现休眠芽。一些地下休眠器官的形成也是短日照促进的。休眠芽的形成也受闪光处理的影响，表现红光抑制休眠，而远红光消除红光的效应，因此，光敏色素介入了休眠的光周期调控。那些夏季休眠的植物，则受夏季长日照诱导而进入休眠。

日照长度也是打破休眠的因素之一，长日照可打破植物的冬休眠。多数植物感受光周期被诱导休眠的部位仍是叶片，但有些植物芽或茎顶端分生组织也能感受日照的长度。

对于日照长度控制休眠的机理，目前不甚清楚，一般推测在秋季日照变短条件下，ABA合成增加，而GA合成减少，在ABA/GA比值高时，诱导休眠；而在休眠过程中，ABA下降，春季日照逐渐加长时，GA合成增加，解除休眠。

温度是和休眠相关的另一重要因子。秋季的日照变短和低温是伴随的，低温下植物进入休眠，而且植物也通过对低温的检测而打破休眠，即在一定的低温下通过相当的时间后，才能从休眠中释放出来，如果温度不够低时，则会延长休眠的时间来补足。所以，植物能自动调节休眠期的长短以适应变化的环境。

缺水干旱或营养不足也能促进植物休眠。如花卉植物仙客来，可被干旱直接诱导进入休眠状态。

### （二）进入休眠的生理状态变化

植物进入休眠时，内部的某些代谢过程逐渐降低。首先是呼吸速率从进入休眠开始下降，至休眠中期达到最低，然后逐渐上升，直至解除休眠。一些种子的种皮或芽鳞阻止氧气进入，可能是导致胚或芽呼吸降低的原因之一，去掉种皮或芽鳞，则呼吸上升。也有人提出，当种子或芽内部氧分压降低后，胚或芽进行无氧呼吸，产生的乙醇和乙醛又是休眠释放剂，这些物质的积累有利于解除休眠。

在进入休眠到萌发的过程中，物质代谢发生了复杂的变化。休眠器官都贮存了大量糖、淀粉、脂肪或蛋白质等物质。一般糖和淀粉表现出互相消长的关系，随休眠加深，总糖下降而淀粉含量逐渐上升，然后又向相反方向转化。脂肪积累不仅作为一种贮藏物质，而且有重要的保护作用，使休眠芽顺利度过严寒的冬季。核酸和蛋白质的生物合成的阻遏和去阻遏，是进入休眠和解除休眠的原初反应。

植物休眠过程中，内源激素的相对含量和平衡关系不断发生变化，尤其是ABA和GA的相对比值变化对诱导休眠或解除休眠都起着重要的调控作用。

## 三、种子休眠

许多作物的延存器官是种子，有些成熟种子并不休眠，如成熟的豌豆种子，只要有水就能萌发，但许多种子在成熟收获后进入深休眠状态，即使水、氧气、温度等条件都适合，也不萌发，它们必须在满足某些特定条件时才能萌发。

### （一）种子休眠的原因

**1. 种胚外包被组织的障碍**

种胚外有种皮、果皮以及一些其他附属物，它们对胚形成层层保护，同时也成为种子萌发的障碍，使种子处于休眠状态。一些种子种皮外有蜡质层或角质层，或由于坚硬而厚的种皮阻止胚对水分和氧气的吸收，并对胚造成机械的阻碍。例如，豆科、茄科等植物具有坚韧的种皮，其上还有不透水的脂类；苍耳等植物的种子，其种皮能透水，但不透气；核果类果树的种子外有非常坚硬的果皮，对胚造成约束。这些种子都需要擦破种皮去除障碍，使水和气体进入，胚才能生长。在自然界靠微生物的活动，种子被鸟类或其他动物吞食后，在消化道中在酶和酸的作用下，种皮软化；高低温变化或水流带着砂石冲击摩擦等来去除种皮的障碍。在实验室或生产上，可用硫酸浸泡棉花种子几分钟至1小时后冲洗来解除休眠；核果类果树种子可采用机械破壳；在某些地区，自然的火烧可使某些植物的种子打破种皮的限制而萌发。

**2. 种子胚未发育完全**

种子休眠的另一原因是胚未发育完全。有些植物，如欧洲白蜡树、银杏、人参、当归、冬青等的种子或果实从外表看似成熟了，但其胚并未发育完全，在脱离母体后，在湿润和适当低温条件下，幼胚继续从胚乳中吸取营养，完成发育后，才能萌发。新采收的人参种子，其胚只有0.3～0.4mm长，几乎完全未分化，整个种子中充满了胚乳，在20℃下3～4个月后，胚生长达到3mm左右，胚乳中的营养转向胚中，胚发育完善后才具有了萌发能力。

**3. 种子未完全成熟**

有些种子的胚已经发育完全，但在适宜的条件下仍不能萌发，它们一定要经过一段时间休眠，在胚内部发生一些生理生化变化，才能萌发，通常称之为后熟(afterripening)过程。苹果、桃、梨、樱桃等蔷薇科的植物和松柏类植物的种子就是这样。在后熟过程中，种子内的淀粉、蛋白质、脂肪等有机物的合成加强，进一步积累物质。经过后熟作用后种皮透性增加，呼吸增强，有机物开始水解。有些植物种子的后熟要求低温，而有些种子则在收获后的晒种干燥过程中完成后熟。

**4. 化学抑制物质的存在**

番茄种子在成熟果实中不萌发，是因为番茄果实的汁液含大量糖和有机酸，渗透势太低，将种子从果实中取出冲洗后很容易萌发。许多种子中存在萌发抑制物质，包括：释放HCN的扁桃苷和芥子油；释放$NH_3$的含氮化合物；水杨酸、阿魏酸等有机酸；香豆素等不饱和内酯；醛类、生物碱和酚类化合物。植物激素脱落酸(ABA)是诱导种子休眠和抑制萌发的重要物质。抑制物质存在的部位因植物而各不相同，如番茄、苹果、梨、西瓜等的抑制物质存在于果肉果汁中；水稻等谷类植物存在于种皮中，菜豆存在于子叶中；鸢尾存在于胚乳中等。在种子贮藏时，经过后熟过程中的生理生化变化，抑制物质分解变化，就不再抑制种子萌发。

利用突变体研究了ABA在种子休眠中的作用。ABA缺乏的拟南芥突变体*aba*就不休眠，用*aba*和野生型正反交的植物种子胚能产生ABA的，就表现休眠，而由母体供应ABA或外源供应ABA都不能诱导休眠。ABA不敏感型突变体*abi1*和*abi3*，其种子虽有高水平的ABA，但休眠的程度却比野生型差。ABA可抑制种子过早萌发[胎萌(vivipary)]。将未成熟胚从种子中取出，在培养基上发育

成熟，就没有休眠期，而表现过早萌发；在培养基中加入ABA，就抑制这种过早萌发。说明在胚胎发育过程中，ABA是一种调控物质。玉米的胎萌突变体，会直接在穗上萌发，这些突变体中，有些是ABA缺乏的，如*vp2*、*vp5*、*vp7*，也有ABA不敏感型的*vp1*。用外源ABA处理那些ABA缺乏型的突变体，可部分阻止胎萌。在种子发育过程中，ABA水平上升时，IAA和GA水平下降。GA缺乏的突变体也不能萌发，所以，不是ABA或GA的绝对水平，而是ABA与GA间的平衡更为重要。而且，ABA主要是在种子发育过程中诱导休眠，而GA主要在贮藏后期刺激萌发。分子生物学研究已经证明，GA诱导α-淀粉酶的合成，而ABA在转录水平上抑制了GA的作用。

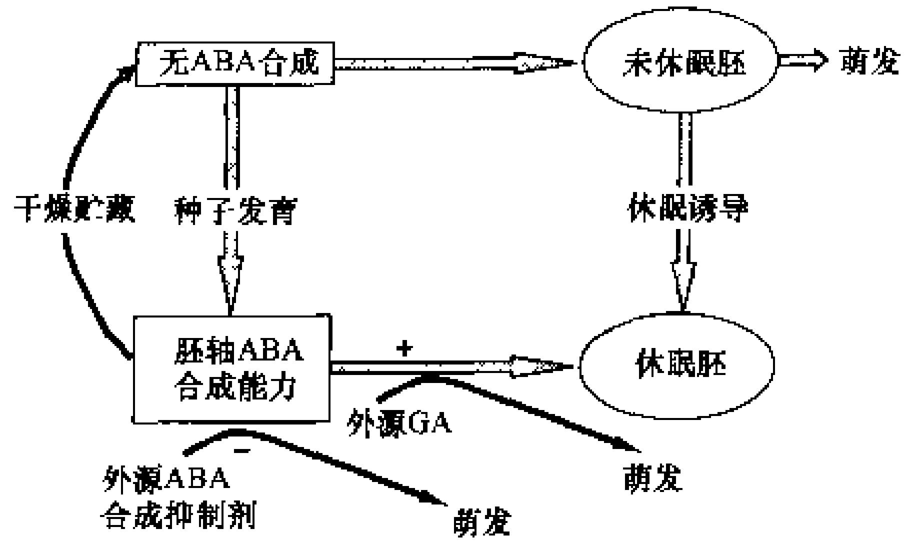



图16-9 ABA原位合成在向日葵胚休眠诱导和维持中的关键作用

(+)在23℃控制条件下ABA合成；

(-)施用fluridone抑制ABA合成。

ABA在休眠的诱导和维持中的关键作用，可用图16-9来说明(图16-9)。

抑制物质的存在有其生态意义，如许多生长在沙漠中的植物，种子中的抑制物质使其处于休眠状态，一旦充分降雨，淋洗掉抑制物质，种子立即萌发，在尚湿润的环境下迅速完成生长周期。抑制物质对种子萌发的抑制作用没有明显的专一性，一些种子的抑制物还可以抑制周围其他种子萌发，从而使这种植物在生存竞争中存活下来，这是植物间的一种异株克生现象(allelopathy)。

种子休眠可能是由上述原因中的某一种，也可能是由多种原因造成的。

## (二) 种子休眠的人工控制

许多植物是被低温诱导而进入休眠，又是低温条件才能打破休眠，这被称为低温预冷(prechilling)。一些果树和裸子植物的种子需在低温下几周或数月、湿润和有氧条件下才能打破休眠，在自然环境中，种子经过冬天的低温而打破休眠，使种子不会在秋天萌发，避开冬天的寒冷，到下一年的春天又重新开始生长。人工的处理是层积(stratification)，即用湿润的沙将种子分层堆埋在室外，经低温预冷。不同植物有不同的低温要求，如苹果、梨、樱桃等在7℃以下经过7～9周，杏经过4～6周可从休眠中释放出来，一种美国李要求长达22周的低温，而柿仅要求4天低温。多数这类种子富含脂肪和蛋白质而淀粉较少，在层积期间，从贮存细胞运输C、N化合物到胚中，供胚生长；积累糖提供能源并有助于渗透吸水而萌发。经预冷的种子的离体胚可在温暖的条件下生长，而未经预冷的种子离体胚，即使在适于生长条件下也不能生长；预冷过的核桃种胚可产生更大的生长力以胀破种皮；紫丁香种子经预冷后虽没有增加其抗机械阻力，但其胚可在更低的渗透溶液中生长，比未经预冷的种子低约0.5 MPa，这些事实说明低温直接作用于胚。

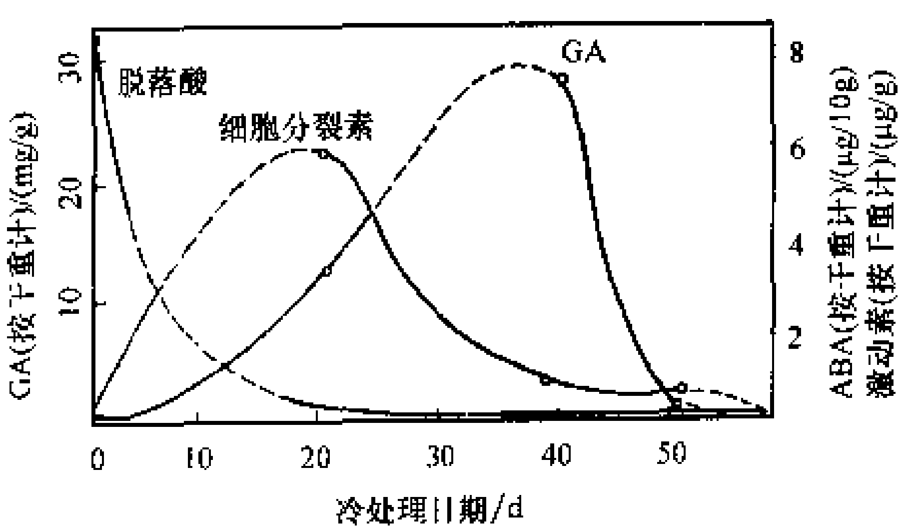



图16-10 糖槭种子在层积(5℃)过程中激素的变化

(曹宗巽和吴相钰 1980)

经预冷后，很重要的变化是抑制剂消失，GA和细胞分裂素水平上升，如榛树种子预冷过程中，在胚轴合成大量GA，约是子叶中GA含量的300倍。糖槭种子在5℃下层积过程中，ABA、细胞分裂素和GA发生交叉的动态变化，与种子的休眠和萌发过程相关(图16-10)。

一些种子要求变温，在恒定的温度下不萌发，

但并不要求很大的温差，一般在 5～10℃即可。如阔叶酸模的种子在恒温下不萌发，在每天 16 小时的 15℃以上温度和 5℃温差条件下，90%的种子迅速萌发。

光也为许多种子打破休眠所必需，去种皮后的种子胚易于萌发，说明种皮是胚接受光信号的障碍，光直接作用于胚。实验证明，由胚中的光敏色素接受光的信号，使胚根能突破种皮的障碍而启动萌发。

药剂处理可打破休眠，促进萌发，常用的主要有 GA、6-BA、IAA 等。

### （三）种子活力与种子保存

在一定条件下，种子从完全成熟到丧失生活力所经历的时间称为种子的寿命(seed longevity)，即种子的生存期限。通常以种子达到 60%以上发芽率的贮藏时间为依据。种子的寿命因植物而异，是遗传特性，也与贮藏条件有关。不同种类植物种子的寿命差别非常大，某些种子的寿命仅几小时至几周，这类种子称短命种子，如酢浆草种子只在新鲜时能萌发；柳属植物的种子寿命约 12 小时。多数栽培作物的种子寿命在几年至几十年，如小麦、水稻、大豆等的种子寿命为 2 年；烟草为 4～5 年；蚕豆、绿豆等为 5～11 年。某些种子可以保持休眠状态，存活长达上千年，如在我国发现的古莲子等。目前几乎不了解为什么种子的寿命有如此大的差别，但对种子维持活力机制的研究，对于延长种子寿命、保存种质资源有重要价值。

常用种子活力(viability)来衡量种子的质量。种子活力指种子迅速整齐萌发的潜力和随后的生长潜势。高活力种子在播种后具有迅速一致的发芽潜势，幼苗有旺盛的生长能力，抗逆性也较强，群体结构好，因而有获得高产的潜力。多数种子在贮存后，种子活力下降，尤其是在湿润和温度较高的条件下，种子很快就失去活力。试验表明，温度在 0～50℃范围内，每降低 5℃可使种子寿命延长 1 倍。种子含水量在 4%～14%范围内，每降低 1%使种子寿命延长 1 倍。降低贮藏时的氧含量，也延长种子的寿命。所以，一般种子宜贮藏于低温、干燥的条件下。生产上也常需延长休眠、防止萌发、延长种子寿命。

## 四、营养器官休眠

### （一）芽 休 眠

许多多年生木本植物休眠的器官是芽。在夏季高温干旱地区生长的某些植物，如橡胶草等，是在夏季来临前落叶而进入夏休眠。多数植物的芽休眠是典型的短日反应，在夏末秋初接受日照缩短、温度降低的信号，就发生了生理和形态变化，其节间缩短，芽停止抽出，在芽外部出现芽鳞片，防止失水，限制氧进入，保持一定的温度，保护芽过冬。树木的落叶和芽休眠虽然是对低温的防御，但一般认为不是低温直接的诱导，而是由叶片感受光周期变化，并通过化学物质传递信息，也有认为芽鳞片可感受光的信号。通常认为植物激素 ABA 可诱导芽休眠，如 ABA 可降低黑醋栗枝条的生长速度；维持桦树枝条芽休眠。但也发现芽中 ABA 含量高低并不总是和休眠的程度相关，如前所述，GA 对打破芽休眠十分有效(图 16-11)。可能是 ABA 与细胞分裂素和 GA 间的平衡在维持和打破休眠中起调控作用。

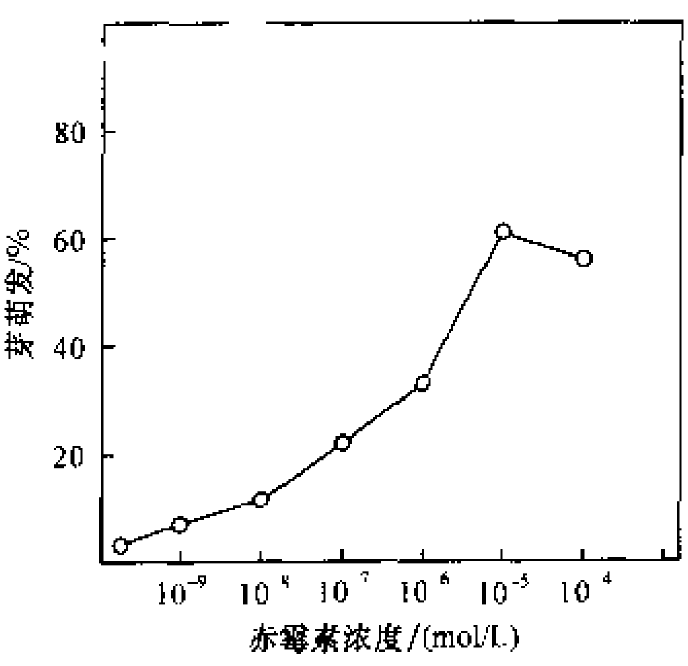


图 16-11　GA 在打破桃树芽休眠中的作用
（曹宗巽和吴相钰　1980）

一些落叶树被长日照打破休眠，有些植物要求低温后再

长日照，由芽鳞或其包裹的原叶感受长日照。一些芽的短日诱导休眠和长日打破休眠是红光 远红光可逆反应，说明光敏素介入了光的信号传递。

低温不仅是诱导休眠的重要因子，而且许多芽的休眠能被一段时间低温打破，如苹果要求在 7℃下 1000～1400 小时，这种对低温时间长度要求的机制，对确定某一品种的种植地区非常重要。一般植物对低温的感应定位在芽中而不被传递，如将休眠的紫丁香的一个枝条从窗口伸出，接受低温，则这一个枝条可打破休眠，而生长在温暖的室内的其他枝条不能打破休眠。

常利用高温刺激来打破芽休眠，如将丁香枝条在 30～35℃温水中浸泡 9～12 小时，可使花芽打破休眠，在冬天开放。也可用二氯乙醇等化学药剂和 GA 等打破果树的芽休眠。

## （二）地下贮藏器官休眠

许多多年生草本植物在不适于生长的条件下，被诱导形成地下变态器官，如块根、块茎、鳞茎或球茎，作为休眠器官以度过高温、低温或干旱时期。这些器官含有休眠的芽，同时贮存大量营养物质。温度是诱导地下贮藏器官休眠的主要因素，有些也受日照长度的影响。以马铃薯为例，它是由地下匍匐茎膨大形成的。马铃薯匍匐茎的发生可在较广的温度和日照条件下进行，由叶片感受温度和日长度的变化，一般短日光周期和较大的昼夜温差下，传递信号至匍匐茎，促进其尖端膨大形成块茎。从叶片送出的信号物质是什么？块茎的形成和发育与 GA 和细胞分裂素的水平动态变化有关，长日照条件下，体内较高的 GA 水平有利于匍匐茎的伸长，当短日照条件使 GA 水平下降后，匍匐茎停止生长而尖端膨大。从马铃薯叶片中分离出茉莉酸类化合物对其块茎形成的诱导非常有效。马铃薯在夏季收获后，一般休眠 40～60 天，收获后立即作种薯不能萌发，马铃薯芽的休眠和萌发，与内源 GA 含量有密切关系，在其休眠芽中 GA 含量很低，而在开始萌发时，芽中的 GA 含量常增加几十倍，所以可用 0.5～1mg / L 的 GA 处理来有效地打破休眠。马铃薯在贮藏期间，也会因超过休眠期而发芽，失去其商品价值，可用低温贮藏、药剂处理等方法来延长其休眠的时间。

一些花卉以鳞茎、球茎为繁殖器官，对其休眠的控制有重要经济价值。

# 小　　结

作为最重要的环境因子之一，不同地区的温度有很大差异，又有季节和昼夜的周期性变化。由此，决定了植物生长的空间分布和时间限制，以及特定发育事件的方向。植物的生理过程及发育进程表现了季节和昼夜的周期性，即温周期现象。每种植物的生长对温度有一定的要求，适合植物生长的最低、最高和最适温度称植物生长的温度三基点。在比最适温度稍低的协调最适温度以及有一定的昼夜温差条件下，植物生长健壮，发育正常。

低温对植物的发育有特殊意义。许多冬性一年生植物和二年生植物，经过低温诱导才能从营养生长向生殖生长转化，这就是低温促使植物开花的春化作用。植物的萌动种子胚或幼苗的茎尖分生组织感受低温，促使某些基因表达或抑制，导致一系列生理状态变化，而后开花。

植物以种子或其他延存器官进入休眠并繁衍后代，休眠是植物发育的一个重要阶段，是对环境，特别是温度变化的主动适应。种子休眠的原因有种皮的限制、种子胚未发育完全、种子需生理后熟及抑制物质的存在等，多种植物激素的动态变化和平衡在休眠的诱导、维持和解除中起重要调节作用。温度和日照是诱导休眠和打破休眠的重要环境信号，许多植物通过对低温的检测而避免寒冷的伤害，但对其分子机理尚不清楚。

**思考题**

(1) 名词解释：植物生长的温周期现象，温度三基点，协调最适温度，春化作用，休眠，生理休眠，强迫

休眠。
(2) 举例说明植物对温度的适应性。
(3) 为什么说春化作用是一种诱导反应？用简单的实验证明植物感受低温的部位和成花反应 的部位。
(4) 春化素、赤霉素及其他植物生长物质与春化作用有何关系？
(5) 春化作用在农业生产实践中有什么应用价值？
(6) 种子休眠的原因有哪些？对植物的生存有什么意义？
(7) 用实验证明植物激素在休眠的诱导和解除中的作用？
(8) 根据所学生理知识，简要说明从远方引种要考虑哪些因素才能成功。
(9) 试讨论温度对植物生长发育的影响。

# 第十七章　植物的生殖与成熟生理

## 第一节　花芽分化和性别表达

### 一、从营养生长到生殖生长的过渡

#### （一）茎尖分生组织发育的相变

高等植物发育过程中，茎尖分生组织不断发生变化，经历幼年期（juvenile phase）、成年期（adult phase）和生殖期（reproductive phase）三个阶段，从一个阶段到另一阶段的转变称相变（phase change）。

**1. 幼年和成年植物的特征**

从幼年期到成年期，植物在形态、叶序、生长能力等营养生长特点方面逐渐变化（表 17-1），由于植物是顶端生长，所以幼年的形态在植物的基部。不同植物幼年期的长短有很大差异（表 17-2），许多植物都是长到一定大小才发生相变而进入成年，此时相对稳定。

**表 17-1　幼年和成年长春藤和玉米的主要特征**

（Taiz & Zeiger　1998）

| 特　征 | 幼　年 | 成　年 |
|---|---|---|
| 长春藤 | | |
| 叶形 | 全缘的 | 浅裂的 |
| 叶片厚度 | 230μm | 330μm |
| 叶序 | 互生 | 螺旋 |
| 出叶间隔时间 | 1 周 | 2 周 |
| 生长习性 | 攀援斜向生长 | 直立生长 |
| 花青素 | 幼叶和茎有花青素 | 没有 |
| 茎上绒毛 | 有 | 光滑无毛 |
| 气生根 | 有 | 无 |
| 生根能力 | 强 | 差 |
| 玉米 | | |
| 角质层厚度 | 1μm | 3μm |
| 表皮细胞形状 | 圆形 | 矩形 |
| 上表皮蜡质 | 有 | 无 |
| 气生根 | 有 | 无 |
| 泡状细胞 | 无 | 有 |
| 侧芽 | 分蘖状 | 穗状或没有 |

**表 17-2　某些植物的幼年期**

（Taiz & Zeiger　1998）

| 植 物 | 幼年期长度 |
|---|---|
| 日本牵牛 | 2～3 天 |
| 大仙子 | 10～30 天 |
| 玫瑰 | 20～30 天 |
| 葡萄 | 1 年 |
| 苹果 | 4～8 年 |
| 柠檬 | 5～8 年 |
| 常春藤 | 5～10 年 |
| 枫树 | 15～20 年 |
| 红杉 | 5～15 年 |
| 英国橡树 | 25～30 年 |
| 竹 | 30～40 年 |

从幼年向成年转变受营养、激素、环境因子等多种信号的影响，如低温、低光强等条件下，有机营养不足，植物生长缓慢，幼年期延长。利用突变体的研究发现，植物有调节幼年期的特异基因，如玉米的突变体 *tp* 是 *TEOPOD* 基因突变，植株表现为在通常应发育为成年结构的部位幼年化：叶片介于幼年和成年植株之间，应出现雌、雄穗的部位仍是叶片等。但突变体的生长速率并未受到影响，说明这个基因控制着从幼年向成年的转变。从根本上说植物发育过程中的相变是特定基因时间和空间顺序表达的结果。

**2. 成花启动**

植物经过一定时期的营养生长后，转入成年期，就能感受环境信号刺激，特别是低温和光周期诱

导，这时植物处于一种感应态(competent)。处于这种生理状态的植物接受了所需求的环境条件诱导后，产生设想的成花刺激物，被运输到茎尖端分生组织，在这里发生一系列诱导反应，随后分生组织进入一个相对稳定的状态，即成花决定态(floral determinated state)。进入成花决定态的植物就具备了分化花或花序的能力，再在发育信号指令和适宜的条件下就可以启动花的发生，进而开始花的发育过程，即进入生殖期。这种转变依赖于特定的环境和发育信号，从根本上改变了分生组织细胞的发育命运(图 17-1)。

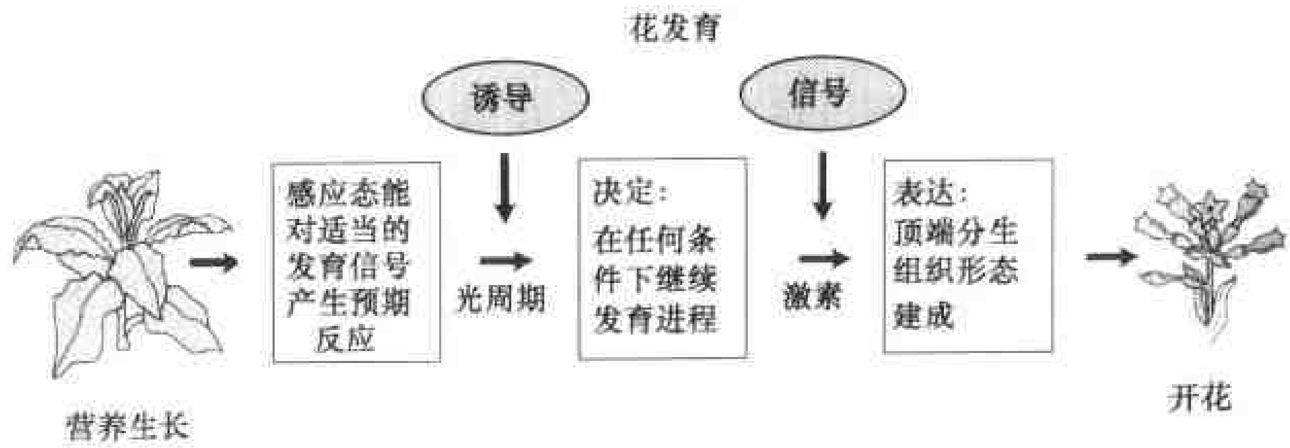



图 17-1　茎尖分生组织细胞成花启动发育简化模式(Taiz & Zeiger　1998)

## (二) 茎生长点的变化

一般将花原基形成、花芽各部分的分化与成熟的过程，称为花器官的形成或花芽分化(flower bud differentiation)。花芽分化初期茎尖端生长点发生一系列形态上和生理生化方面的变化。

**1. 形态变化**

不论是禾本科植物的穗分化或双子叶植物的花芽分化，在经过光周期诱导后(有的植物既要经低温春化，又要经光周期诱导)，最初的形态变化都是生长锥的伸长和表面积增大。例如小麦在春化过程结束一段时间以后，生长锥开始伸长，其表面的一层或数层细胞分裂加快，这些细胞体积小、细胞质浓、细胞内无淀粉粒；而生长锥的中部细胞分裂较慢并逐渐停止，细胞较大，细胞质较稀薄，其中出现液泡，并有淀粉粒。由于表层和中部细胞分裂速率不同，而使生长锥表面出现皱折，由原来分化叶原基的生长点开始形成花原基，再由花原基逐步分化出花器官的各个部分。图 17-2 是短日植物苍耳在接受短日诱导后，生长锥由营养状态转变为生殖状态的形态变化过程。

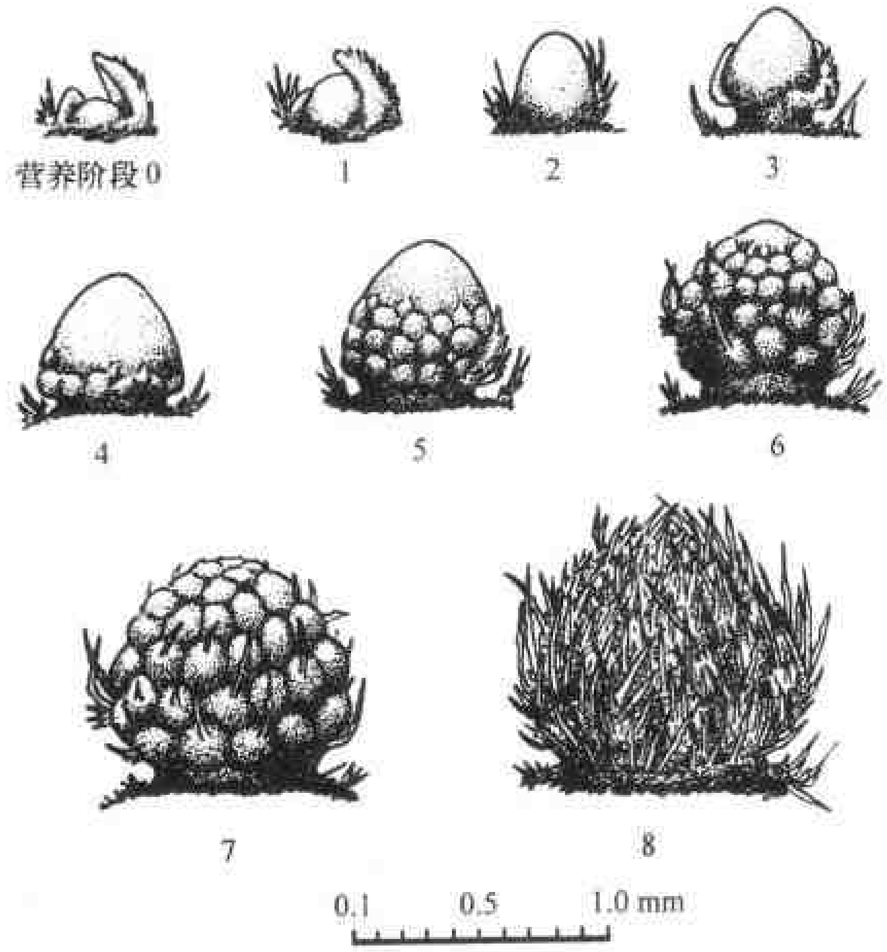



图 17-2　苍耳接受短日诱导后生长锥的变化 (Salisbury & Ross　1992)

**2. 生理生化变化**

在开始花芽分化后，细胞代谢水平增高，有机物发生剧烈转化。葡萄糖、果糖和蔗糖等可溶性糖含量增加；氨基酸和蛋白质含量增加；核酸合成速率加快。试验表明，若用 RNA 合成抑制剂 5-氟尿嘧啶或蛋白质合成抑制剂亚胺环己酮处理植物的芽，均能抑制营养生长锥分化成为生殖生长锥，说明生长锥的分化伴随着核酸和蛋白质的代谢变化。已在许多植物中证实花器官分化和发育的基因调控作用，特别是在拟南芥中发现有多种基因参与调控开花。

### （三）花器官形成所需要的条件

**1. 营养状况**

营养是花芽分化和花器官形成的物质基础，营养生长和生殖生长之间还存在着对营养的竞争，所以营养物质的合理分配也很重要。碳水化合物对花芽的形成尤为重要，它是合成其他物质的碳源和能源。花器官形成也需要大量的蛋白质，氮素营养不足，花芽分化缓慢而且花少，但是氮素过多，C/N比失调，植株贪青徒长，花发育也不好。例如水稻颖花分化时需要大量养分，但是由于发育的先后和养分的限制，在同一穗上的不同颖花所获得的营养多少有差异，分布在上部枝梗与枝梗顶端的花发育早，优先获得较多的营养物质，生长势强，发育正常；而在同一穗上的下部枝梗的中部偏上的颖花发育迟，发生弱势花而产生空瘪粒。精氨酸和精胺、含磷化合物和核酸等都与花芽分化有关。花芽分化涉及多种物质代谢的复杂过程。

**2. 内源激素对花芽分化的调控**

花芽分化受内源激素的调控，特别是对果树花芽分化，如GA可抑制多种果树的花芽分化；细胞分裂素、ABA和乙烯则促进果树的花芽分化；IAA的作用比较复杂，低浓度起促进作用而高浓度抑制。在夏季对果树新梢进行摘心，则GA和IAA减少，细胞分裂素含量增加，能改变营养物质的分配，促进花芽分化。

总之，体内的营养状况与激素间平衡相互影响而调节花芽的分化。在一定的营养水平条件下，内源激素的平衡对成花起主导作用。在营养缺乏时，则要受营养状况所左右。

**3. 环境因子**

光对花器官形成的影响最大。除日照长度对成花的诱导外，植物花芽分化期间，光照时间长，光照强，有机物合成多，则有利于开花。如在花器官形成时期，多阴雨天，光照弱，光合产物少，则营养生长延长，花芽分化受阻。在农业生产中，对果树的整形修剪，棉花的整枝打杈，可以避免枝叶的相互遮阴，使各层叶片都得到较强的光照，有利于花芽分化。

一般植物在一定的温度范围内，随温度升高而花芽分化加快。温度主要影响光合作用、呼吸作用和物质的转化及运输等过程，从而间接影响花芽的分化。苹果的花芽分化最适温度为22～30℃，若平均气温低于10℃，花芽分化则处于停滞状态。

水、肥条件适宜，在适量的氮肥条件下，配合施用磷、钾肥，并注意补充锰、钼等微量元素，有利于花芽分化。

## 二、性别分化与表达

高等植物中存在着与动物类似的性的差别，即有雌性和雄性器官之分，甚至有严格的雌性个体和雄性个体之分。但植物的性别与动物相比有许多独特之处。首先，动物，特别是高等动物，雌雄个体间在许多方面存在明显差异，而在植物中雌雄性别间的差别主要表现在花器官上，一般无明显第二性征。其次是高等植物性别分化（sex differentitation）的多样化，动物中性别分化的结果一般只形成雄性和雌性个体，而高等植物中性别分化则表现出多种形式。此外，高等植物性别分化的不稳定性，动物在发育早期性别分化已确定，雌雄性别间很难改变，而高等植物一般在个体发育后期才完成性别表达（sex expression），其性别分化极易受到环境因素或化学物质的影响。

### （一）植物性别表现类型

大多数高等植物是形成两性花的雌雄同株同花植物（hermaphroditic plant），还有一些只开雌花或雄花的雌雄异株植物（dioecious plant），及在同一植株上既开雄花又开雌花的雌雄同株异花植物

(monoecious plant)。此外，经过长期人工选择，人们还得到了一些特别品系，如在某些同株异花植物中有仅开雄花的雄性系(androecious line)，仅开雌花的雌性系(gynoeciousline)，既开雄花又开两性花的雄花、两性花同株植物(andromonoecious plant)和既开雌花也开两性花的雌花两性花同株植物(gynomonoecious plant)。在一些雌雄异株植物如大麻、菠菜中，在雌、雄株之间还有一些中间类型。表 17-3 列出了高等植物性别表现的主要类型。

**表 17-3 高等植物性别表现的主要类型**

| 性别表现类型 | 同一植株上可能形成的花型 | 代表植物举例 |
|---|---|---|
| 雌雄同株同花型 (hermaphroditism) | 两性花 | 小麦，番茄，拟南芥 |
| 雌雄同株异花型 (monoecism) | 雄花和雌花 | 玉米，黄瓜，门麦瓶草 |
| 雌雄异株型 (dioecism) | 雄花或雌花 | 菠菜，大麻，杨，柳 |
| 雌花两性花同株型(gynomonoecism) | 雌花和两性花 | 金盏菊，灰绿藜 |
| 雌花两性花异株型(gynodioecism) | 雌花或两性花 | 小蓟 |
| 雄花两性花同株型(andromonoecism) | 雄花和两性花 | 硬毛茄，槭树，元宝枫 |
| 雄花两性花同株型(androdioecism) | 雄花或两性花 | 柿树 |
| 三性花同株型 (trimonooecism) | 雌花和雄花和两性花 | 番木瓜 |
| 三性花异株型 (trioecism) | 雌花或雄花或两性花 | 番木瓜 |

雌雄异株的植物，两类个体间的代谢方面有明显的差异。如大麻、桑、番木瓜等植物的雄株的呼吸速率高于雌株；一般植物雄株的过氧化氢酶的活性比雌株高约 50%～70%；而银杏、菠菜等植物雄株幼叶的过氧化物酶同工酶谱带数少于雌株；许多植物的雌株的 RNA 含量，以及叶绿素、胡萝卜素和碳水化合物的含量都高于雄株；雌雄株植物内源激素含量也有明显差异，如大麻雌株叶片中的 IAA 含量较高，而雄株叶片中 GA 含量较高；在雌雄异株的野生葡萄中，雌株的细胞分裂素含量高于雄株。这些差异的生理意义尚不明确。

## (二) 性别分化的调控

### 1. 性别决定的遗传控制

植物性别表现类型的多样性，反映了不同植物性别决定有其不同的遗传控制方式。

在许多雌雄异株植物中存在两类性别基因，一类是在 X 或 Y 染色体上的性别决定基因。另一类为与性别决定基因相互作用，以保证相应的性器官正常发育，而使相对的异性器官败育的基本性基因。不同性别的植物个体具有不同的性染色体组成，因此具有不同的性别决定基因，与基本性基因相互作用，从而决定相应性器官的发育或败育。有的植物和动物相同，雄性个体有异配型(XY)染色体而雌性个体有同配型(XX)染色体。

在雌雄同株异花植物中，在同一植株上产生不同性别的花，是由相关的性基因控制在何时何处产生雄花或雌花。这类植物的花芽在分化初期都具有两性器官，在发育过程中，一个性器官受到抑制或退化，最后发育成单性花。已经鉴定出影响黄瓜性别表现的多个基因位点；通过对玉米突变体的研究也发现了一些与其性别决定有关的基因，如 *ts1* 和 *ts2* 两个突变使雄性花序向雌性花序转变，导致雄穗结实。但它们的突变并不影响营养体发育，而只是影响了正常的性别决定过程。

### 2. 年龄

雌雄同株异花的植物性别随年龄而变化。通常雄花的出现往往在发育的早期，然后才出现雌花。如玉米的雄花先抽出，而后在茎秆的一定部位出现雌花。在黄瓜的植株上，雄花着生在较低的节位

上，而雌花着生在较高的节位。

### 3. 环境条件

影响性别分化的环境条件主要包括光周期、温周期和营养条件等。

经过适宜光周期诱导的植物能开花，但雌雄性花的比例却受诱导之后的光周期影响。总的来说，如果植物继续处于诱导的适宜光周期下，促进多开雌花，如果处于非诱导光周期下，则多开雄花。例如长日植物蓖麻，在花芽形成前 10 天，每天光照延长至 22 小时，就大大增加雌花的数量；长日植物菠菜，在光周期诱导后给予短日照，在其雌株上也能形成雄花；短日植物玉米在光周期诱导后继续处于短日照下，其至可在雄花序上形成果穗。

光周期不仅能调节开花，而且能控制性别表达和育性。令人感兴趣的是湖北光敏感核不育水稻的发现。80 年代初，我国科学家发现农垦 58 水稻的一种突变体农垦 58S 具有短日诱导可育，而在长日照条件下，其花粉完全败育的特性，这就是后来命名的"湖北光周期敏感核不育水稻"。在幼穗二次枝梗原基分化期到花粉母细胞形成期受到长日处理会产生雄性不育，该时期受到短日处理则花粉正常，这是一种自然发生的突变体，其特性取决于一对日照长度敏感的隐性雄性核不育基因的表达。用经典的检测光敏色素作用的方法证实，光敏色素是这种水稻接受光周期的光受体。对光敏核不育水稻的研究为杂交水稻的研究开辟了新领域，为研究植物基因表达、生物遗传工程等提供了好材料，也推动了光周期理论的研究。国内外陆续发现了一批类似的新材料，说明这种光敏感核不育在自然界是一较为普遍的现象。

较低的夜温与昼夜温差大时对许多植物的雌花发育有利。如夜间较低温度有利于菠菜、大麻、葫芦等植物的雌花发育；但黄瓜在夜温低时雌花减少；对于番木瓜，在低温下雌花占优势，在中温下雌雄同花的比例增加，而在高温下则以雄花为主。

通常水分充足、氮肥较多促进雌花分化，而土壤较干旱，氮肥较少时则雄花分化较多。

### 4. 性别表达的激素调控

植物内源激素参与了性别表达的调控。据报道，不同性别植株或性器官内源植物激素含量有所不同(表 17-4)。玉米矮生型突变体比野生型有较低的 GA 水平，造成雌穗中雄蕊发育。

**表 17-4　不同性别植株或性器官内源植物激素含量比较**

| 植物激素 | 植物种类 | 器官 | 相对含量比较 |
|---|---|---|---|
| 生长素 | 黄瓜（*Cucumis sativus*） | 茎尖 | 雌株>雌雄同株 |
| | 芦笋（*Asparagus officinalis*） | 幼花 | 雄株>雌株 |
| 细胞分裂素 | 芦笋（*Asparagus officinalis*） | | 雄株>雌株 |
| | 山靛（*Mercyrialis annua*） | | 雌株>雄株 |
| 赤霉素 | 玉米（*Zea mays*） | 花序 | 雌花序>雄花序 |
| | 黄瓜（*Cucumis sativus*） | 幼雌芽 | 雌雄同株>雌株 |
| 脱落酸 | 大麻（*Cannabis sativus*） | 叶片、花序 | 雌株>雄株 |
| | 黄瓜（*Cucumis sativus*） | 叶片、茎端 | 雌株>雌雄同株 |
| 乙烯 | 黄瓜（*Cucumis sativus*） | 花芽 | 雌花芽>雄花芽 |

外施生长物质可以有效地控制植物的性别表现。IAA 一般增加雌株和雌花，如用 IAA 处理雌雄同株的黄瓜，不仅可以降低第一朵雌花的着生节位，而且可增加雌花的数目；GA 则正相反，主要促进雄性器官的发育，而不利于雌性器官的分化。对雌雄异株的大麻施用 GA 后，雄株由 50%增加到 80%，而雌株却下降到 20%。细胞分裂素有利于雌花的形成，可以使黄瓜增加雌花的数量。乙烯也和

IAA 一样，促进雌花发育。在农业生产上采取熏烟来增加雌花数量，原因可能是因为在烟中含乙烯和 CO，CO 的作用是抑制 IAA 氧化酶活性，保持较高水平的 IAA 而有利于雌花的分化。机械损伤增加雌花数量也是因为增加了乙烯所致。三碘苯甲酸（TIBA）和马来酰肼可抑制雌花的产生，而矮壮素（CCC）则能抑制雄花的形成，和 GA 相对抗。它们对植物性别分化的作用，可能是通过调节植物内源激素的水平和不同激素的相对比例而起作用的。

植物激素参与调控性别决定的机理尚不清楚，可能在不同植物中，激素在分子水平上的作用机理具有很大的差别，同样的激素在不同植物中可能起完全相反的作用。如 GA 在玉米中起雌化作用，而在黄瓜中却起雄化作用，而且外施生长物质和内源激素的作用也不尽相同。首先应了解植物性别分化过程中内源激素水平变化的规律及其作用机制，才能更有效地进行人工控制。

### （三）花器官发育的基因调控

花器官的形成和发育依赖于器官特征基因在时间顺序和空间位置上的正确表达。近年来对有关花发育的特异性基因的研究已有突破性进展，最突出的是对花发育的同源异型基因的研究。有时花的某一重要器官位置发生了另一类器官替代的突变，如花瓣部位被雄蕊替代等，这种遗传变异现象称花发育的同源异型突变（homeotic mutation）。控制同源异型化的基因称为同源异型基因（homeotic gene）。已克隆了拟南芥和金鱼草花结构的多数同源异型基因并进行了序列分析。这些基因分别控制花分生组织特异性、花序分生组织特异性和花器官特异性的建立。Coen 等人（1991）提出了花形态建成遗传控制的"ABC 模型"的假说：典型的花器官具有四轮基本结构，从外到内依次为萼片、花瓣、雄蕊和心皮分别由 A、AB、BC 和 C 组基因决定。控制花结构的这些基因按功能可分为三大类：A 组基因控制第 I、II 轮花器官的发育，其功能丧失会使第 I 轮花萼变成心皮，第 II 轮花瓣变成雄蕊；B 组基因控制第 II、III 轮花器官的发育，其功能丧失会使第 II 轮花瓣变成萼片，第 III 轮雄蕊变成心皮；C 组基因控制第 III、IV 轮花器官的发育，其功能丧失会使第Ⅲ轮雄蕊变成花瓣，第 IV 轮心皮变成萼片。图 17-3 示金鱼草的几种同源异型突变体，可以看出，各组基因突变都会影响花形态建成，尤为重要的是影响花的性器官产生，其中控制雄蕊和心皮形成的那些同源异型基因是最基本的性别决定基因。

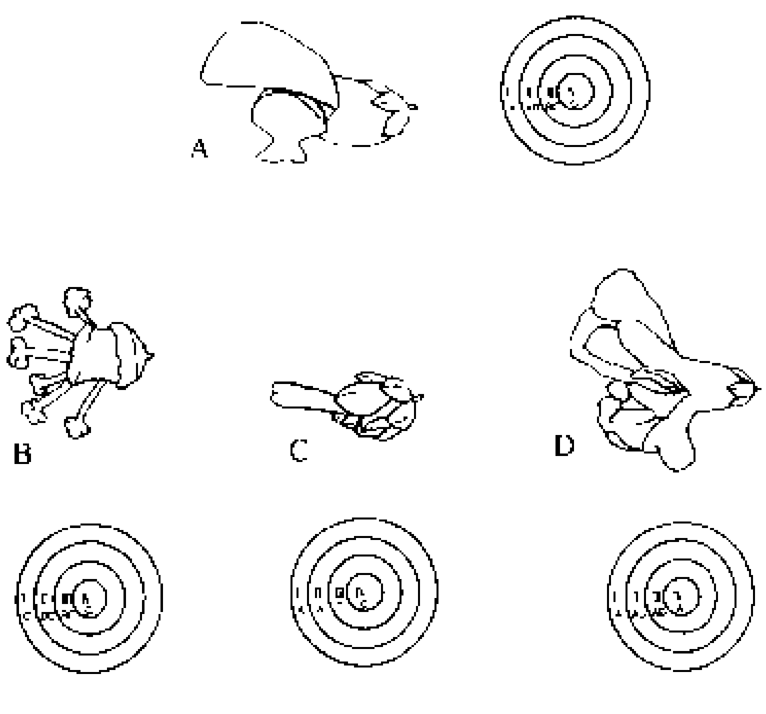



图 17-3　花器官发育的同源异型突变体及 ABC 模型（许智宏和刘春明　1998）

A. 野生型。B. *ovu* 突变体。在此突变体中，由于 C 功能的异常表达导致功能的失活，其结果是轮 I 着生子房；轮 II、轮 III 着生雄蕊；轮 IV 为败育的心皮。C. *def* 突变体导致 B 功能缺陷，因此轮 I 和轮 II 均着生萼片；轮 III 为合生的心皮；轮 IV 的心皮发育不全。D. *plean* 突变体中 C 功能失活。轮 I 和轮 II 分别为正常的萼片和花瓣；轮 III 和轮 IV 为不定数目的花瓣。

## 第二节　受精生理

高等植物的有性生殖是植物个体发育过程中最重要的阶段，它关系到植物种的后代繁衍。在这个复杂的过程中，植物体内发生了剧烈的变化。高等植物的雄配子在花药中发育，雌配子在胚珠中发育成熟，花粉在柱头上萌发，花粉管沿花柱生长到达胚囊，释放出精子，与卵细胞融合，产生合子，完成植物的受精过程，开始新一代孢子体的发育。

# 一、花粉与柱头生理

## （一）花粉结构和化学组成与功能的适应

植物的雄蕊包括花药和花丝，管状的花丝将雄蕊和花托连接在一起，具有运输水和营养物质的功能。花粉在雄蕊的花药中发育成熟（图 17-4）。花粉有两层壁，外壁较厚，由纤维素、角质和孢粉素组成，孢粉素是花粉所特有的，抗酸、抗微生物分解，对花粉起保护作用，孢粉素也有很强的吸水性，利于花粉吸水萌发。花粉的内壁较薄，由果胶质和胼胝质组成。花粉外壁有来自孢子体绒毡层的糖蛋白，具有种的特异性，授粉时与柱头相互识别；而花粉内壁蛋白来自配子体本身，是在花粉发育过程中形成的，主要是与花粉萌发和花粉管生殖有关的水解酶类。

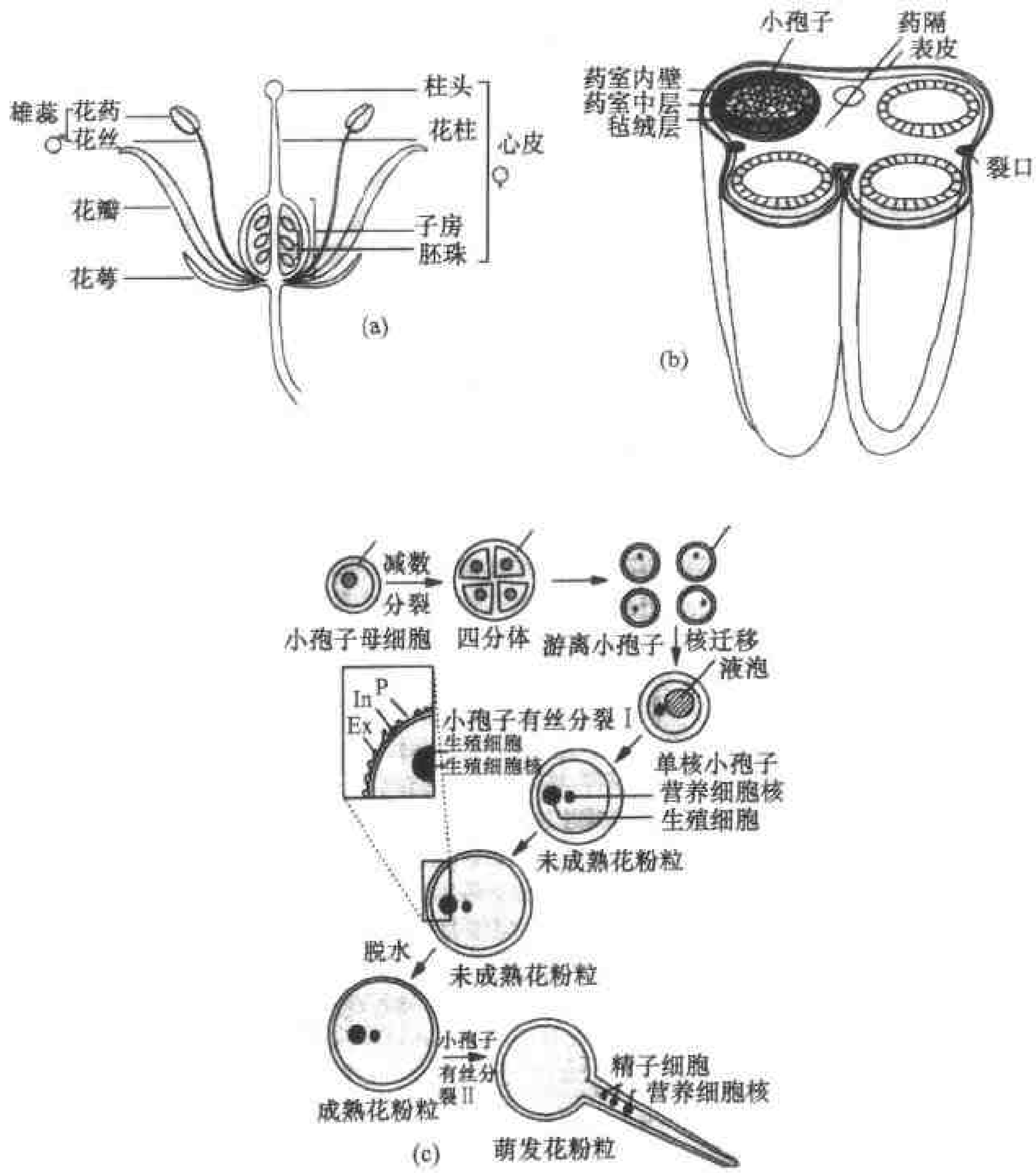



图 17-4　显花植物花、雄蕊结构及小孢子发生示意图（许智宏和刘春明　1998）

(a)显花植物花的结构；(b) 减数分裂前花药的横切面，显示不同组织的排列方式；(c)显花植物小孢子发生。

许多花粉含色素，包括类胡萝卜素和类黄酮等，花粉中的色素可吸引昆虫传粉，防止紫外线对花粉粒的破坏，在某些植物中，花粉中的色素与自花授粉不亲和性有关。

花粉中含大量碳水化合物、脂类和氨基酸。水稻、高粱、甘蔗等作物的花粉属淀粉型花粉，其含淀粉的多少可作为判断花粉发育程度的指标。可溶性糖的种类和含量也与花粉的生活力有关，如小麦，含果糖、葡萄糖和蔗糖的为可育花粉，而只含果糖和葡萄糖，不含蔗糖的为不育花粉，可见蔗糖对花粉的发育是很重要的。一般花粉中含有较多的游离氨基酸和酰胺，可达花粉干重的 6%～28%。其中特

别是脯氨酸含量高，花粉中的脯氨酸除参与蛋白质合成，还为花粉萌发与花粉管生长提供碳源、氮源和能源，并参与调节花粉中的 pH 环境，提高花粉对逆境的抗性等。正常的可育花粉中脯氨酸含量很高，而异常的不育花粉中脯氨酸含量低。花粉中还含有许多矿质元素，多少不等的脂类和各种维生素，尤其是维生素 E，因此其营养十分丰富。

花粉内有多种酶类。首先是淀粉酶、蔗糖酶、果胶酶、脂肪酶、蛋白酶等水解酶类，其次是氧化还原酶、裂解酶、异构酶等，这些酶催化物质转化，为花粉萌发和花粉管生长提供营养。花粉中存在的过氧化物酶和酯酶的同工酶，具有植物种的特点，可用于植物亲缘关系的鉴定。

花粉中含生长素、赤霉素、细胞分裂素等内源激素，其中生长素含量最高，十字花科植物的花粉中含丰富的油菜素内酯。这些生长物质对花粉萌发、花粉管生长以及授粉、受精和结实都起着重要的调节作用。

## （二）花粉生活力

花粉的生活力因植物而有很大的差异，一般的农作物花粉寿命较短，如水稻花粉，在田间条件下几分钟就有 50%以上的花粉失去生活力，10～15 分钟几乎完全丧失生活力。小麦花粉在几小时内活力开始下降。玉米花粉的寿命约 1～2 天。果树的花粉寿命可长达几周到几个月。向日葵花粉的寿命可达 1 年。而如蔷薇科的一些果树的花粉可在几年中保持活力。当然，花粉的寿命与外界条件有关，高温高湿、极度干旱、氧分压过高或高光强等会降低花粉的生活力。

在育种工作中，常需贮藏花粉，干燥、低温、低氧含量的条件有利于花粉的贮藏，延长花粉的寿命。目前采用超低温、真空和冷冻干燥技术贮藏花粉，可使其寿命大为延长。

## （三）雌蕊的组成和柱头的特性

雌蕊是被子植物的雌性生殖器官，由三部分组成：位于基部包含胚珠的子房，受精后发育成果实；位于子房上部的花柱，花粉管在其中生长到达子房；位于花柱顶端的柱头，是花粉附着和萌发的部位。

位于花柱的顶端柱头表面有许多乳突状或毛刷状细胞，成熟的柱头可分为湿润型和干燥型两类。湿润型柱头表面有由表皮细胞分泌的脂肪酸、糖、硼酸等分泌物，呈酸性。这些分泌物可黏着花粉，促进花粉萌发和花粉管生长，也有对花粉识别的作用。干燥型柱头不产生分泌物，由其表皮细胞外表面的蛋白质膜对花粉起识别作用。

柱头的生活力因植物而异，一般能持续几天，如水稻的柱头生活力约 6～7 天，但其授粉能力以开花的当日最强。小麦的柱头在麦穗从叶鞘中抽出 2/3 时就有授粉能力，在麦穗完全抽出后第 3 天结实率最高，花粉生活力共约维持 9 天，但第 6 天后结实能力明显下降。玉米花丝长度达穗长一半时，柱头即有授粉能力，在花丝抽齐后 1～5 天内授粉能力最强，6～7 天时授粉能力开始下降，第 9 天则急剧下降。授粉时，花粉与柱头同时处于高度活力状态，有利于植物顺利完成授粉、识别、受精过程。

## （四）雌雄配子发育过程中的基因表达

大量特异基因在花药和花粉发育的不同时期表达，如编码脂转移蛋白、蛋白酶抑制剂、果胶酶、乳糖多聚酶等的基因在花药中特异表达，细胞骨架蛋白在花粉中的特异性表达可能与花粉的萌发和花粉管的伸长有关。已经利用与雌蕊发育有关的突变体研究其发育的分子机理，在雌蕊中有很多种与其他器官不同的 mRNA，根据功能可将雌蕊特异性基因分为两类，一类是与防御功能有关的蛋白质的基因，这些与抗病有关的基因的存在可保护植物的生殖器官不受病菌的侵染；另一类是水解糖苷键的酶的表达，通过酶消化多糖以帮助花粉管生长。

## 二、授粉与受精的分子机理

### （一）授　　粉

**1. 花粉与柱头的识别作用**

花粉粒落在柱头上后，花粉与柱头间互换信息，产生双向的信号传递，即相互识别的过程（recognition）。广义地说，识别是一类细胞与另一类细胞在结合过程中通过物理、化学的信息交流，发生特殊反应。花粉与柱头间的识别对于植物保持物种的稳定是十分重要的。这个识别反应决定于花粉外壁蛋白与柱头乳突细胞表面的蛋白质表膜（pellicle）之间的相互作用。如果花粉与柱头之间的识别是亲和的，花粉粒正常萌发，花粉管尖端分泌角质酶，消化柱头表面的角质层，花粉管可以进入花柱生长，如果不亲和，柱头表面细胞产生胼胝质，阻止花粉管进入花柱。这是雌雄配子体间最初的识别过程。

**2. 花粉萌发时的基因表达**

花粉粒落到雌蕊的柱头上后，如果是亲和的，花粉粒萌发，伸出花粉管。多数植物的花粉萌发很快，花粉管的生长速率也很高。如玉米花粉落到柱头上，5 分钟内即萌发，在 24～36 小时内就可伸长达 50cm。在花粉萌发时，蛋白质合成迅速启动，但在萌发和花粉管生长早期合成蛋白质所需的 mRNA多是在花粉发育时合成并贮存于花粉粒中的。如在烟草花粉管中合成的 69kDa 和 66kDa 多肽就是由成熟花粉粒中贮存的 mRNA 在花粉管生长时翻译形成的糖蛋白（Capkvoa et al. 1994）。玉米中分离到的花粉特异基因 *Zm13* 是在小孢子有丝分裂后出现 mRNA，在花药开裂时开始翻译蛋白质，在花粉管生长期间继续进行，其产物主要在花粉萌发和花粉管生长期间发挥作用（Mascarenhas 1993）。但在花粉萌发后确实也有新的 mRNA 形成。

**3. 花粉管生长**

花粉管的生长局限于顶端区域，在花粉管顶端有大量的囊泡和细胞骨架系统。而在花粉管的非生长区域含丰富的线粒体、高尔基体、内质网等。随花粉管生长，不断合成花粉管壁，花粉营养细胞的重要作用就是合成胞壁物质并组装花粉管细胞壁。花粉管中的胞质环流异常活跃，显然和花粉管生长时的代谢和物质运输有关。

花粉管生长过程中，与位于花柱内部的传递组织相互作用进一步识别，花柱传递组织中的一些类似动物玻连蛋白（vitronectin）的蛋白质分子可能协助花粉管生长，花柱也为花粉管生长提供营养。

生长的花粉管如何准确地经胚珠的珠孔进入胚囊？目前的研究结果表明，花粉管的生长表现出趋化性，雌蕊的结构和化学信号物质为花粉管的生长定向，如 $Ca^{2+}$ 对花粉管的萌发和生长都有刺激作用，生长素、一些低分子质量的蛋白质和黄酮醇等都有助于花粉管的生长。

### （二）受　　精

**1. 双受精**

受精作用（fertilization）指植物的卵细胞与精细胞相互融合的过程。被子植物成熟胚囊中含一个卵细胞、两个助细胞、三个反足细胞及一个含两个极核的中央细胞（图 17-5）。多数植物沿花柱生长的花粉管从胚囊珠孔端进入两个助细胞之一，这个接受性助细胞在花粉管到达之前退化，释放出 $Ca^{2+}$ 等信号物质。从花粉管尖端释放出的一个精子与卵细胞融合，形成合子，发育成胚；另一个精子与极核融合后发育成胚乳。完成双受精过程。此后胚囊中的其他细胞解体。

**2. 受精过程中雌蕊的生理生化变化**

在受精过程中，胚珠与子房发生了剧烈的变化，影响整个植物体的代谢。首先表现为呼吸速率提高，如棉花受精时的呼吸速率比开花当天高 2 倍；一些植物受精的子房出现呼吸高峰，同时呼吸商也

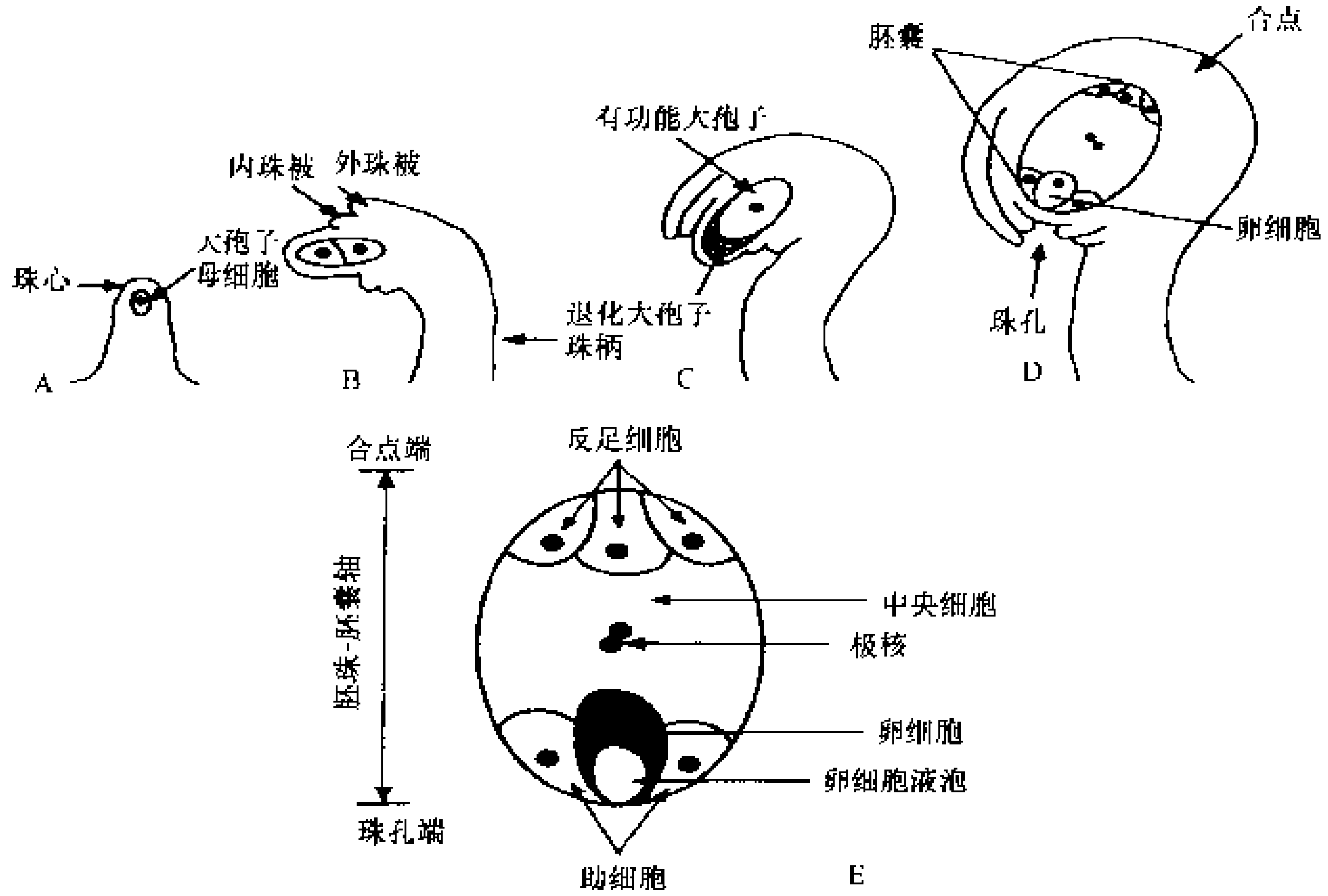



图 17-5 胚珠的发生和胚囊结构的示意图(许智宏和刘春明 1998)

A—D胚珠的发育，图示倒生胚珠的不同发育时期。A. 胚珠原基的发生：此时的胚珠具有单一的大孢子母细胞。B. 内、外珠被的发生。大孢子母细胞进行第一次分裂。C. 减数分裂后的胚珠。位于合点端的有功能大孢子开始膨大，珠孔端的非功能性大孢子退化。D. 雌配子发生后的胚珠。成熟的胚囊含有7个细胞和8个细胞核。E. 胚囊的结构。卵细胞和助细胞组成的所谓卵器位于珠孔端。花粉管从珠孔进入胚囊。三个反足细胞位于合点端。卵细胞与助细胞为近邻，而不是位于后者之间。

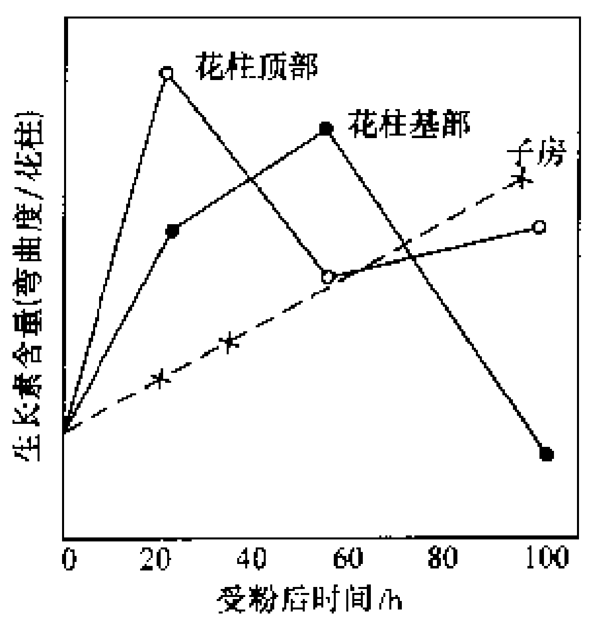



图 17-6 烟草授粉后不同时间雌蕊组织各部分生长素含量的变化(曹宗巽和吴相钰 1980)

有上升的趋势，反映了物质代谢的变化。受精后细胞中的各种细胞器数量增加，并进行重新分布，大量造粉体和线粒体围绕核排列，多聚核糖体和高尔基囊泡增多，壁物质合成旺盛。

授粉受精过程中，雌蕊生长素含量显著增加并发生动态变化(图 17-6)，一方面花粉带人了大量生长素，同时，随花粉管萌发，雌蕊组织中生长素含量顺序增加。子房中的植物激素含量变化，如生长素和细胞分裂素含量增加，刺激了细胞分裂和生长。这时子房成为竞争力很强的库，整个植物的生长中心转移到种子和果实，大量营养物质运入，子房迅速膨大。

**3. 自交不亲和性的分子基础**

许多植物的花粉落在同花的雌蕊柱头上不能成功地受精，表现自交不亲和性(self-incompatibility)。除了位置、形态和时间上的障碍外，亲和性的分子基础是花粉和柱头以S等位基因产生的特异蛋白的识别作用，S基因的表达产物多为糖蛋白。在开花前后的特定时间表达。当花粉与雌蕊中表达的S等位基因相同时，就发生自交不亲和反应。

自交不亲和性可分为孢子体型和配子体型两类。孢子体型自交不亲和性的识别一般在柱头表面进行，即通过花粉外壁蛋白与柱头表膜蛋白的交流信息而识别。S基因在柱头乳突细胞表达糖蛋白，表现在花粉管不能穿透柱头乳突细胞的角质层，通常十字花科、菊科等三核花粉和干型柱头的植物属这一类。配子体型自交不亲和性，一般产生双核花粉和湿润型柱头的植物如茄科、蔷薇科、百合科植物及三核花粉中的禾本科植物属这一类，其S基因表达的糖蛋白在花柱中，花粉萌发和生长进入花柱，

在花柱组织内被抑制生长。最近的研究证明，某些植物的配子体S基因的糖蛋白有核酸酶活性，称S-RNAase，可抑制自体花粉的生长。因此，自交不亲和系统在柱头细胞中或在花粉管中产生胼胝质，阻碍花粉管进入花柱或继续生长，不能到达胚囊而完成受精。

可采取适当的办法来克服植物的不亲和性。通过增加染色体倍性，如人工将自交不亲和的二倍体诱导得到四倍体，常可表现自交亲和。常采用的蕾期授粉是利用雌蕊未成熟或衰老时，它们的不育基因尚未定型或不亲和成分减弱来克服不亲和障碍。高温或射线处理以及用生长物质也可部分克服自交不亲和性反应。目前较多采用离体培养、细胞杂交或原生质体融合等技术得到种间或属间杂交种。

### （三）影响授粉受精过程的因素

授粉受精过程是植物发育的一个极其重要的环节，内部和环境条件对这个过程的影响直接关系到植物种的延续以及作物的产量和质量。

糖是花粉萌发时的渗透调节物质，也是花粉管生长的物质、能量来源。在花粉和柱头上都有蔗糖调节渗透势，使萌发的花粉能正常生长。花粉在纯水中萌发后即破裂，因此多雨的气候影响授粉而造成空瘪粒。

花粉中含较高的硼，硼和糖形成复合物，有利于花粉对糖的吸收；硼还参与果胶物质的合成，促进花粉管生长时管壁的建造。所以，硼对花粉的萌发和花粉管生长都有促进作用，植物缺硼时，常出现花而不实的现象，即因为不能正常授粉受精。在油菜等作物或果树的生产中，注意花期喷施硼酸，对提高产量和坐果率十分有效。

适于开花的温度，一般也是花粉萌发和花粉管生长的适宜温度，一般在20～30℃。夏季开花的植物比秋季开花的植物最适温度高。苹果春天开花时，如遇零下低温，花粉和胚囊都发育不好而不能正常授粉受精。

花粉的萌发和花粉管生长对pH也非常敏感，不同植物或不同品种的最适pH不同，多数植物在较大的pH范围内表现为钟形曲线，少数植物，如芸薹属花粉只在pH6.5时才能萌发。

一般落在柱头上的花粉密度越大，花粉萌发比例越高，花粉管生长也较快，这种现象叫花粉萌发的集体效应（population effect）。这显然与花粉粒产生的某些物质促进萌发和生长有关。

# 第三节　种子的发育和成熟

植物受精后，受精卵发育成胚，胚珠发育成种子，子房形成果实。种子的发育包括合子分裂形成一个完整胚，大量营养物质在种子中转化积累的过程，种子发育受一系列基因控制，发生了剧烈的生理生化变化。种子发育是否正常，决定了植物下一代的发育，也决定了作物的产量和品质。

## 一、种子发育过程中的生理生化变化

### （一）种子代谢和贮藏物质积累

**1. 碳水化合物**

小麦、水稻、玉米等禾谷类种子和豌豆、蚕豆、菜豆等豆类种子以贮藏淀粉为主，通常称为淀粉种子。在这类种子发育过程中，首先是大量的糖从叶片运入种子，随淀粉磷酸化酶、Q酶等催化淀粉合成的酶活性提高，可溶性糖向淀粉转化，积累在胚乳中（图17-7）。禾谷类种子在乳熟和糊熟期淀粉积累最快，干重迅速增加，与淀粉合成相关的一重要酶是淀粉磷酸化酶。

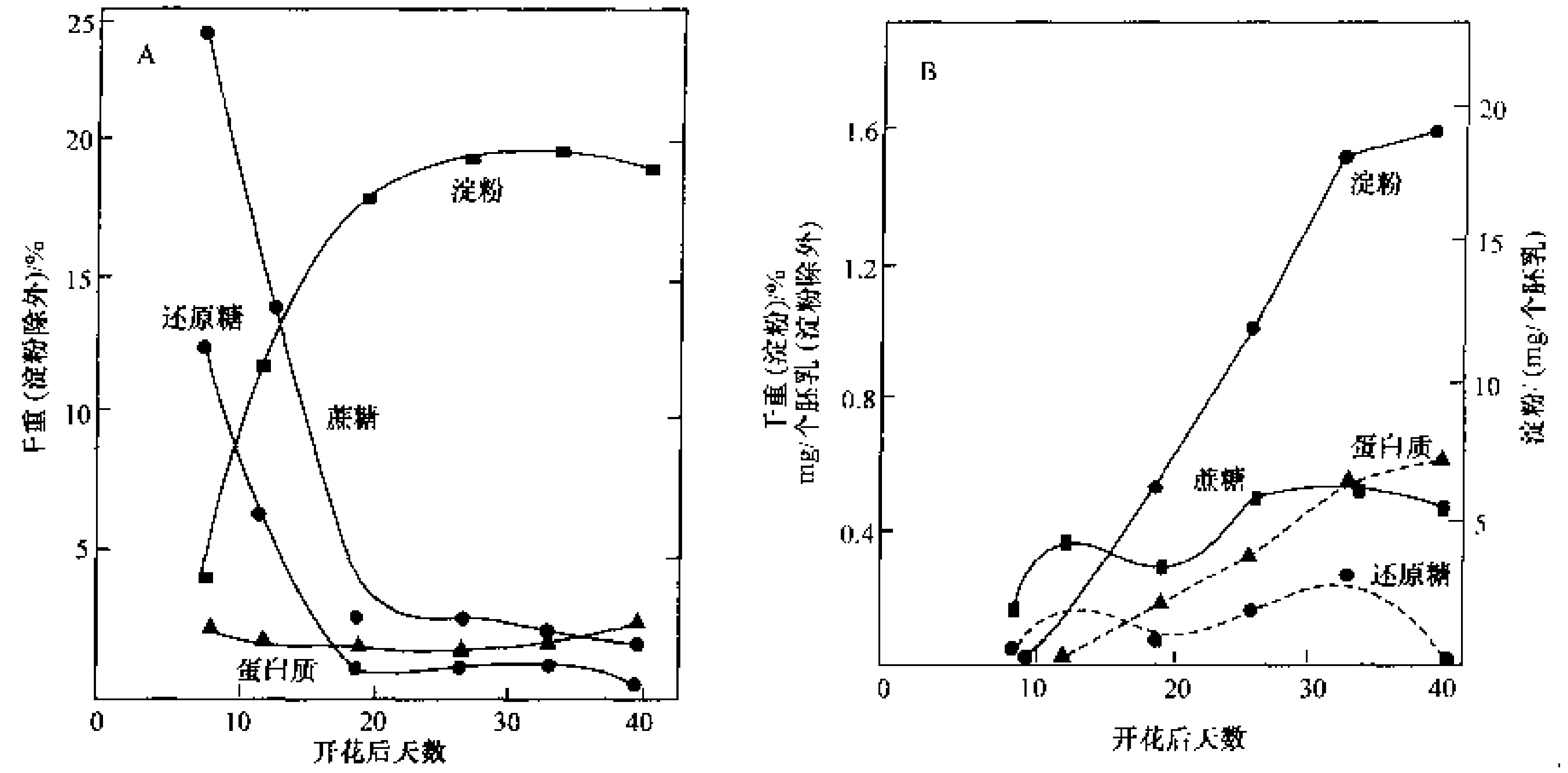



图 17-7 小麦开花后主要物质的变化(曹宗巽和吴相钰 1980)

A. 以干重%表示，表明淀粉的增加是以糖的消耗为基础的。B. 以每个胚乳的毫克数表示，表明蔗糖的绝对含量并没有减少，还原糖的量也变化不大。显然，淀粉和蛋白质的积累是消耗了由叶中转运来的糖类，而不是已经存在的糖类。注意两图中淀粉的数值均用右边的纵坐标。

**2. 脂肪**

大豆、花生、油菜、向日葵等种子中脂肪含量很高，称为脂肪种子，或通常所说的油料种子。这类种子发育初期，同样积累碳水化合物，但伴随种子重量增加，碳水化合物向脂肪转化(图 17-8)。脂肪种子代谢的另一个特点是，在种子成熟初期，先合成饱和脂肪酸，而后在去饱和酶作用下，转化为不饱和脂肪酸，所以油料植物种子提取的脂肪中主要含不饱和脂肪酸。

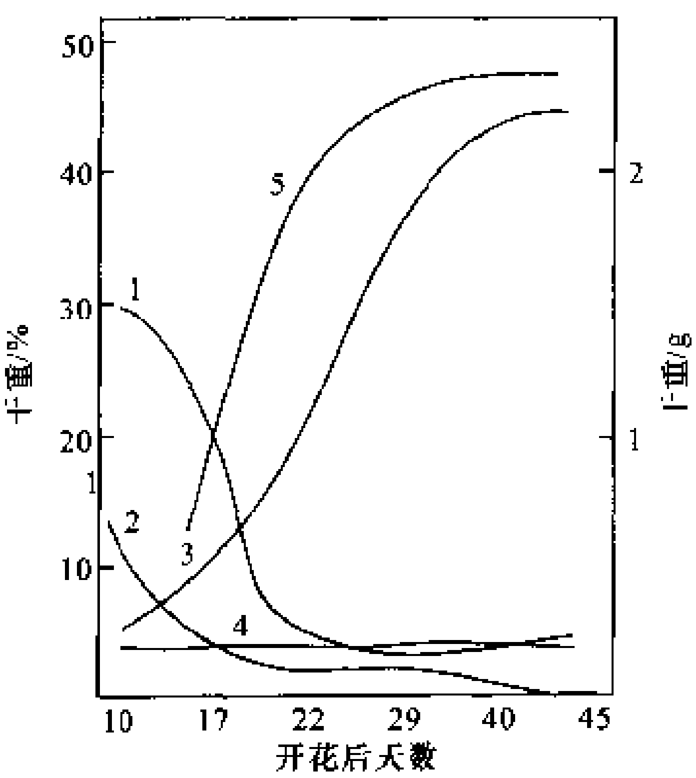



图 17-8 油菜种子成熟过程中物质的变化(曹宗巽和吴相钰 1980)

1. 溶性糖；2. 淀粉；3. 干粒重；4. 含氮物质；5. 粗脂肪。

**3. 蛋白质**

许多植物的种子都含丰富的蛋白质，大豆等豆科植物的种子主要贮藏蛋白质，可称为蛋白质种子。种子发育过程中，从叶片运来的氨基酸和酰胺运至荚果的荚皮，先合成蛋白质，暂时贮存，以后被分解成为酰胺，运入种子后再合成蛋白质。

**4. 非丁**

由叶片运入种子的糖常是与磷酸结合的，当糖转化为淀粉时脱下磷酸，游离的磷酸不利于淀粉合成，在种子中通过与肌醇和钙、镁结合形成肌醇六磷酸钙镁[即非丁(phytin)]来转化游离的磷酸。水稻种子成熟时，80%的无机磷以非丁形式贮于糊粉层，种子萌发时，非丁分解，释放出磷、钙和镁，供幼苗生长之用。有认为非丁是禾谷类等淀粉种子中磷酸的贮备库与供应源，是植物对磷酸含量的一种自动调节。

**5. 种子含水量的变化**

种子生长达最大后，含水量逐渐降低而趋于成熟，此时种子的鲜重降低，干重基本稳定，这是种子的成熟脱水。这个过程对于种子完成生活史是必需的，低含水量有利于种子贮藏，抵御恶劣环境，使

种子得以较长时间的存活，确保种系繁衍。

### （二）内源激素的动态变化

种子成熟受多种激素的调节控制，种子中内源激素的含量随种子发育而动态变化。如小麦，受精前其胚珠中细胞分裂素含量极低，而在受精末期增加到最高后即下降；受精后籽粒开始生长时，GA 迅速增加，在第 3 周达到高峰，然后下降；在籽粒膨大时 IAA 含量增加，当籽粒鲜重达最大时，IAA 含量也最高，但籽粒成熟时几乎测不到活性了；种子发育过程中，ABA 含量也大大增加。内源激素的顺序变化对种子的发育有其特殊功能，首先出现的细胞分裂素，可能调节籽粒形态建成的细胞分裂过程，其次增加的 GA 和 IAA 参与调节有机物向籽粒的运输与积累，ABA 与种子中物质转化及脱水干燥进入休眠有关。

## 二、种子发育的基因控制

### （一）种子贮藏蛋白基因表达

种子发育的特点之一是大量合成和积累贮藏蛋白，在种子萌发时迅速分解，为幼苗生长提供养料，并对种子起保护作用。种子发育过程中，贮藏蛋白的基因大量地在种子发育的特定时间及部位表达。许多作物的种子贮藏蛋白的基因被克隆成功。多数种子贮藏蛋白是多基因家族编码的，如玉米有 20 多种醇溶蛋白，其编码基因多达 75 个；油菜的 2S 水溶性蛋白的基因数约 2～5 个，这使得同一种子中存在不同的蛋白异构体。

植物激素 ABA 在转录水平上促进许多种子贮藏蛋白的基因表达，如大豆的豆球蛋白、油菜的水溶蛋白 napin、云扁豆的云扁豆蛋白、小麦的麦胚凝集素、玉米的 15kDa 富含甘氨酸蛋白等。

矿质营养也影响种子贮藏蛋白基因表达。特别是硫，缺硫时，种子中含硫的贮藏蛋白大大减少。甲硫氨酸的含量在很大程度上影响种子贮藏蛋白基因的表达。一方面，高含量的甲硫氨酸刺激富含甲硫氨酸蛋白质 mRNA 的翻译，使其较稳定而不被降解；另一方面，甲硫氨酸抑制含硫贫乏的种子贮藏蛋白基因的转录。所以，甲硫氨酸含量对种子不同蛋白的积累起到平衡的作用。可利用基因工程提高种子甲硫氨酸含量，面间接地提高了转基因植物种子中富含硫蛋白的比例，这也许是提高种子含硫氨基酸含量以提高其营养价值的有效途径。

当种子发育至成熟干燥的最后阶段，干燥信号如一个“开关”，种子发育过程中的蛋白质基因表达，贮藏蛋白停止合成，而打开种子萌发所需的基因的开关。

### （二）与种子生理相关基因的表达

除了贮藏蛋白基因外，在种子发育中、后期还有一些具特殊生理功能的蛋白质基因表达。这类基因的产物是种子胚胎发育后期高丰度表达的蛋白质（late embryogenesis-abundant proteins），简称 Lea 蛋白。这类蛋白在胚发育后期含量很高，但在种子萌发早期迅速消失。Lea 蛋白是高亲水性的可溶性蛋白，有高度的热稳定性。人们将已鉴定出的 Lea 蛋白基因分为三组：小麦、玉米等的 *Em* 基因；水稻的 *RAB* 基因和大麦的 *Dehydrin* 基因；胡萝卜的 *Dc3* 和 *Dc8* 基因、大麦的 *PHVal* 基因及玉米的 *MLG3* 基因。这些基因编码的蛋白质在种子发育的中、后期可能起很重要的作用：首先，由于这些蛋白质富含不带电荷的氨基酸，并且具高度热稳定性，所以可保护细胞的结构和代谢，参与种子抗脱水过程，使种子在后期脱水时不致受到破坏；在这一时期，种子中积累渗透调节物质，有认为 Lea 蛋白可作为渗调物质的调节蛋白。其次，研究表明某些 Lea 蛋白带有正电荷的保守区域可以和核酸结合，调节基因表达和发育事件。随着对 Lea 蛋白基因表达研究的深入，推测这类蛋白质中有和种子休眠直

接相关的蛋白,进一步发现并研究这些蛋白,将有助于研究种子成熟和休眠的分子机理。

# 第四节 果实的发育和成熟

果实生长停止后,发生一系列生理生化变化,包括色、香、味的形成和硬度变化,达到可食状态,这个过程即果实的发育和成熟(fruit development and ripening)。果实成熟有利于种子的传播,种族得以繁衍。果实的成熟也决定了作为食品的水果和蔬菜的质量和商品价值。因此,对果实成熟的研究,生产实践上对果实成熟的调控,不仅对认识成熟的本质有重要的理论意义,而且对果实和蔬菜的采收、运输、贮藏保鲜、加工和销售都非常重要。

## 一、果实的发育

### (一) 果实的生长

果实的生长与植株的生长大周期一样,表现出"慢-快-慢"的特点,呈典型的S形曲线。但是,不同植物果实的生长特点不同,如梨、苹果、香蕉、菠萝、草莓、番茄、茄子等植物的果实的生长积量只呈单S形曲线;而桃、李、杏、樱桃等的果实有两个迅速生长的时期,其生长曲线呈双S形。

果实的生长受各种内源激素的调节,生长素、细胞分裂素和赤霉素在果实生长前期起促进果实膨大生长的作用,特别是生长素起关键作用。在田间常能看到一边膨大的畸形果实,发现在不膨大的一侧种子发育不好,幼嫩种子富含生长素,促进果实的发育。草莓是由花托发育而成的假果,其上生长瘦果,每个瘦果中有一粒种子,其中富含生长素,去掉瘦果则花托不能发育膨大,但如在去掉瘦果后用生长素处理,则花托可继续生长膨大,可见果实的膨大离不开生长素。

### (二) 无融合生殖与单性结实

果实的生长与种子有关,大多数情况下,如果不受精,子房不会膨大而形成果实。但有些植物的卵不经受精作用也可直接发育成胚,或由胚珠内的反足细胞、助细胞等发育成胚,形成种子,产生有籽果实,这叫无融合生殖(apomixis)。

另一种情况是,植物不经受精作用,但子房膨大形成无籽果实,这种现象叫单性结实(parthenocarpy)。有些植物是天然的单性结实,如无籽的香蕉、柑橘、葡萄等,是由于发生了突变而形成的,以后经人工无性繁殖形成无籽的品种。这些品种的子房中生长素含量较有籽的品种高,在开花之前积累大量生长素,使子房不经受精作用而膨大。无籽果实也可由于温度或光照等环境因子的刺激形成,用生长物质处理也能有效地诱发单性结实。如常用低浓度的2,4-D或赤霉素处理番茄,得到无籽果实。

## 二、果实成熟过程中的生理生化变化

### (一) 呼吸跃变

随着果实的成熟进程,某些果实的呼吸速率最初降低,至成熟末期突然升高而后下降,这种现象称果实的呼吸跃变(respiratory climacteric)。呼吸跃变的出现标志着果实达到成熟可食的程度,也意味着果实即将进入衰老。梨、香蕉、番茄等果实在成熟过程中出现明显的呼吸高峰,呼吸速率可增加若干倍,这类果实称为跃变型果实。而如草莓、柑橘、葡萄等果实在成熟期间没有明显的呼吸跃变,为非跃变型果实(表17-5)。

呼吸跃变的产生,可能是因为果实发育过程中,积累了大量物质,糖酵解速度加快,产生较多呼吸底物;在果实发育的一定阶段,水解酶与呼吸酶活性提高,番茄果实的苹果酸脱羧酶活性在转红期明

**表 17-5　常见的跃变型果实和非跃变型果实**

| 跃变型果实 | 非跃变型果实 | 跃变型果实 | 非跃变型果实 |
|---|---|---|---|
| 苹果 (*Malas Sylvestris*) | 樱桃 (*Prunus avium*) | 芒果 (*Mangifera indica*) | 菠萝 (*Ananas Comosus*) |
| 鳄梨 (*Persea americana*) | 葡萄 (*Vitis vinifera*) | 甜瓜 (*Cucumis melo*) | 草莓 (*Fragaria*) |
| 香蕉 (*Musa Sapientum*) | 柠檬 (*Citrus timonia*) | 李 (*Prumus americana*) | 抑制成熟突变体番茄 (*nor*) |
| 桃 (*Prunus persica*) | 柑橘 (*Citrus Sinensis*) | 番茄 (*Lycopersicon esculentum*) | 不成熟突变体番茄 (*nor*) |
| 猕猴桃 (*Actinidia chinensis*) | 荔枝 (*Litchi chinensis*) | | |

显升高，使苹果酸脱羧而产生较多 $CO_2$；线粒体氧化磷酸化活性提高；检测到果实的抗氰呼吸增加，可起到对细胞色素氧化链分流的作用，这是维持果实代谢的一种调节机制。

最主要的原因是内源乙烯含量增加(图 17-9)，有些果实在呼吸上升前出现乙烯高峰，有些果实的乙烯产生与呼吸同步上升。许多证据说明乙烯是促进果实成熟的激素：在果实中乙烯含量的增加和呼吸速率上升的时间进程一致；用外源乙烯处理可诱导和加速果实成熟；用减压抽气等方法除去果实中的乙烯则推迟成熟；乙烯生物合成的抑制剂和乙烯作用的拮抗剂都可抑制成熟；乙烯对非跃变型果实也有促进成熟和衰老的作用。跃变型果实有明显的乙烯大量产生，非跃变型果实的内源乙烯水平一直维持在很低的水平(表 17-6)。跃变型果实和非跃变型果实的重要区别在于它们乙烯生成的特性和对乙烯的反应不同，跃变型果实中存在两个乙烯生成和调节系统，其中系统Ⅰ负责跃变前果实中低速率的基础乙烯的生成；系统Ⅱ负责跃变时乙烯自我催化的大量生成。非跃变型果实乙烯生成速率较低，整个成熟过程中只有系统Ⅰ乙烯生成。但是，外用乙烯对非跃变型果实同样具有促进成熟、衰老的作用。果实对乙烯的敏感性也随果实的发育而提高。

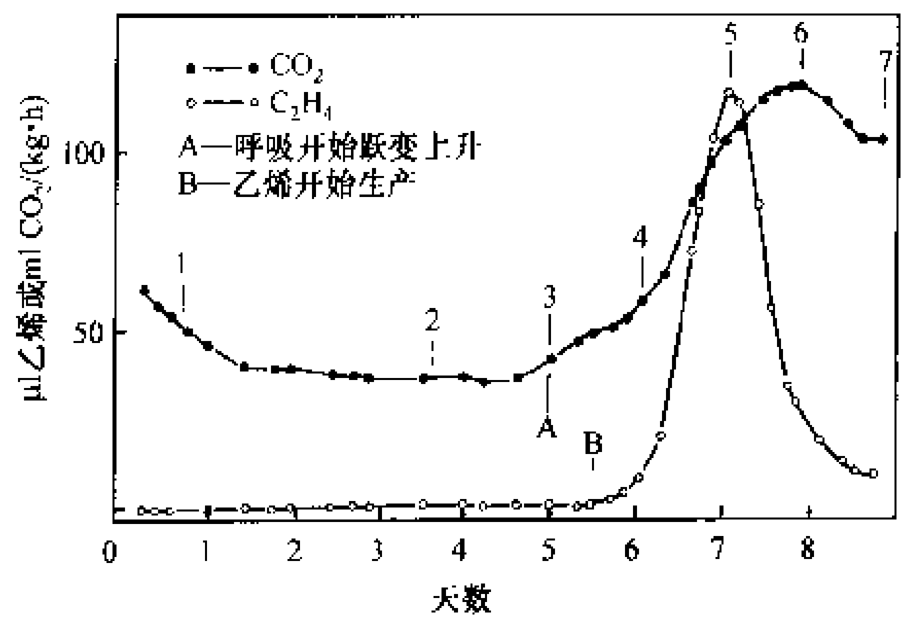


图 17-9　鳄梨果实的呼吸和乙烯产生 (陆定志等　1997)

**表 17-6　某些果实内源乙烯水平/(μg / g)(陆定志等 1997)**

| 果实 | 跃变型果实 | | 非跃变型果实 | |
|---|---|---|---|---|
| | 跃变前乙烯水平 | 跃变后乙烯水平 | 果实 | 乙烯水平 |
| 鳄梨 | 0.1 | 300～700 | 甜橙 | 0.04～0.12 |
| 香蕉 | 0.1 | 40 | 柠檬 | 0.11～0.17 |
| 苹果 | 0.02 | 100 | 中国甜橙 | 0.014～0.028 |
| 桃 | 0.02 | 42 | 葡萄 | 0.01～0.1 |

## (二) 果实成熟过程中的物质转化

果实在生长膨大过程中发生一系列生理生化变化(图 17-10)。从叶片运入的糖多转化为淀粉贮于果肉细胞中，所以，幼果并无甜味，随着果实成熟，淀粉酶、转化酶、蔗糖合成酶活性提高，淀粉水解转化成可溶性的葡萄糖、果糖、蔗糖等积累在液泡中，果实逐渐变甜。同时，柠檬酸、苹果酸、酒石酸等有机酸转化为糖，使果实的酸味降低。某些未成熟果实由于单宁等物质的存在而有涩味，果实成熟期间，在过氧化酶的催化下被氧化或形成不溶性物质，果实涩味消失。果实成熟过程中，酶催化形成各种酯类或醛类等芳香物质，使果实具有其特殊的香味，如香蕉主要含乙酸戊酯，而柑橘含柠檬醛。果

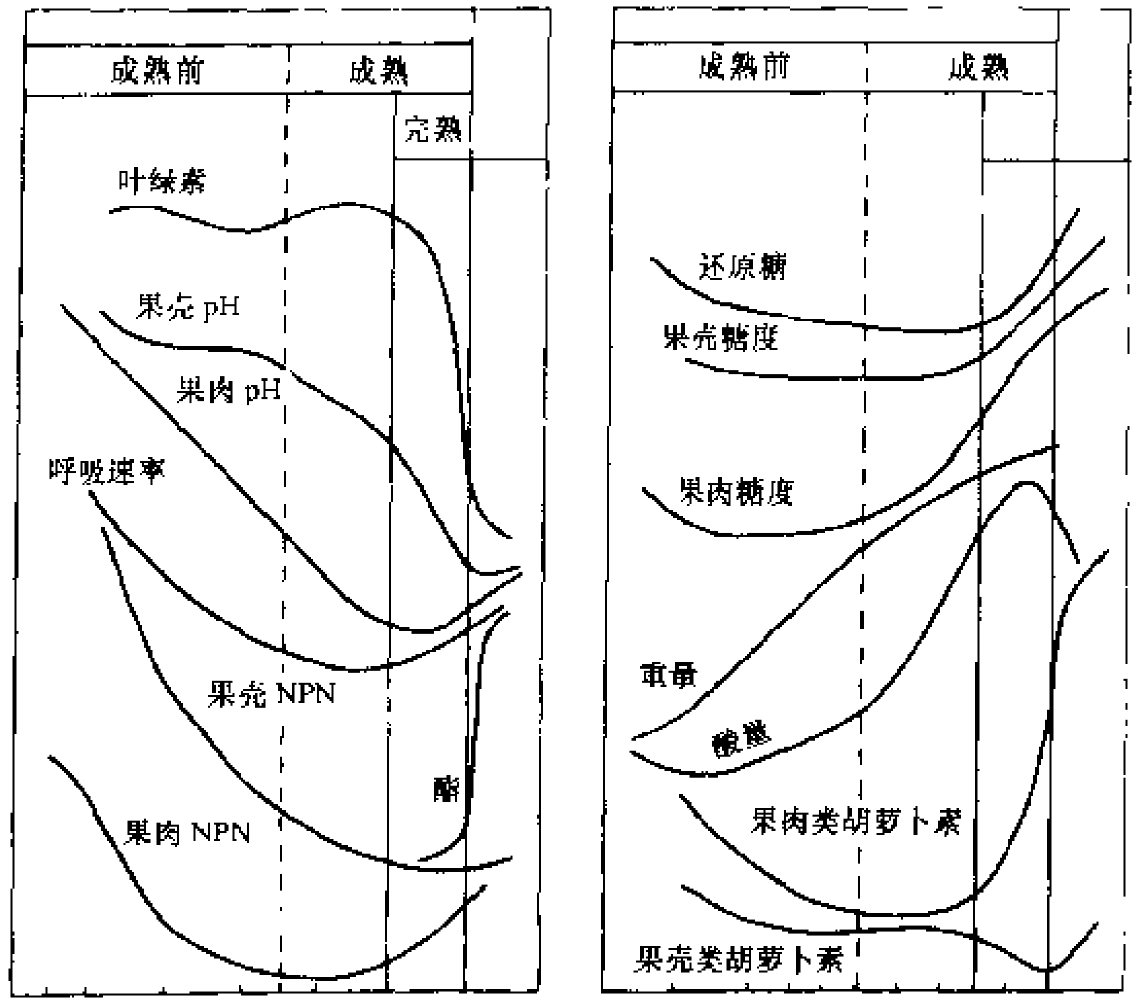



图 17-10 菠萝果实发育期间生理生化变化（陆定志等 1997）

皮中含叶绿素、类胡萝卜素和花色素三类色素。果实成熟之前，由于存在大量叶绿素，果皮呈绿色，随着果实发育，叶绿素降解大于合成，逐渐减少，类胡萝卜素合成积累增加，果皮呈现黄色和橙色。果实长大之后，在阳光照射和较大的昼夜温差下，花色素的合成加强，使得果实向阳部分更加红润鲜艳。经过这样一些变化，果实的色香味达到成熟状态。

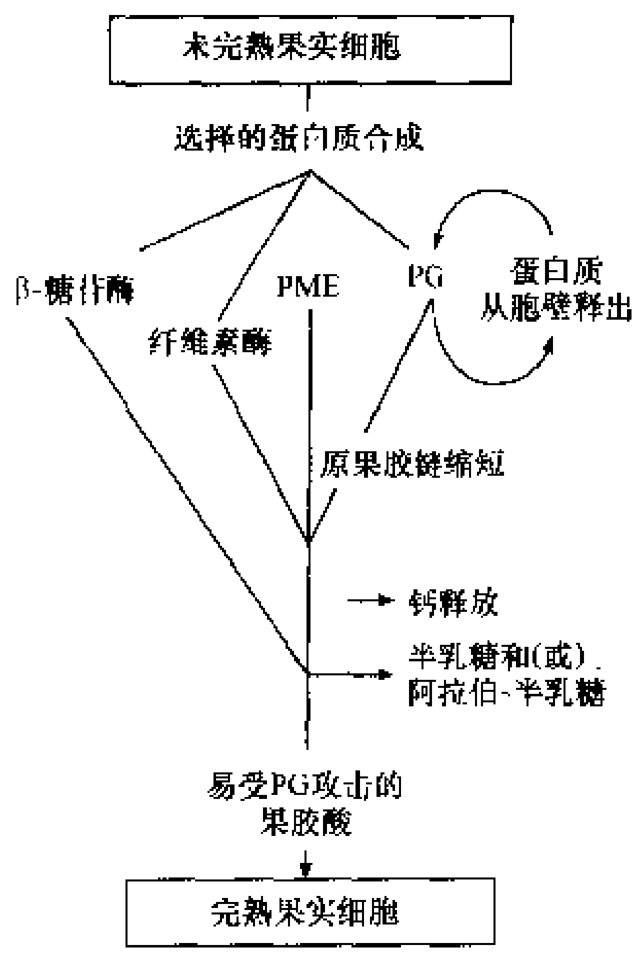



图 17-11 跃变型果实成熟过程中胞壁降解（陆定志等 1997）

## （三）细胞壁水解酶和果实软化

通常未成熟果实很硬，因为细胞的初生壁中含大量不溶于水的原果胶。在果实发育过程中，多聚半乳糖醛酸酶（PG）基因表达加强，酶活性提高。许多证据表明，PG 主要负责催化果胶降解，果肉细胞壁中层分开；体外离体细胞壁内 PG 催化果胶降解；PG 的水平与果实软化程度相关；缺乏 PG 的番茄突变体果实不软化。同时，纤维素酶活跃，使纤维素链部分降解，其他如甘露糖酶、糖苷酶、木葡聚糖酶、半乳糖苷酶等都参与细胞壁的水解，使果实变软。图 17-11 概括了果实成熟过程中细胞壁的重要变化。

# 三、果实成熟的调控

## （一）果实成熟的基因表达

番茄是研究果实成熟的典型材料，从番茄果实中分离提取 Poly (A)RNA，证明果实成熟过程中，mRNA 发生了变化，一些 mRNA 消失，出现了一些新的 mRNA。许多实验室在果实发育早期和成熟启动时筛选鉴定了与成熟有关的基因，如番茄的 *PTOM5*、*PTOM6*、*PTOM13*、*PTOM36*、*PTOM99* 等基因在成熟果实中大量

表达，RNA合成量增加。

乙烯是启动和促进果实成熟的激素，乙烯合成的关键酶，ACC合成酶和ACC氧化酶都由多基因家族编码。现已证明*PTOM13*为ACC氧化酶基因，低水平乙烯即可诱导其大量表达。用反义RNA技术获得的转基因植株，乙烯生物合成大大降低，果实不能正常成熟。

在番茄果实中，PG是主要的胞壁水解酶之一，*PTOM 6*是编码PG的基因。研究表明，果实成熟过程中，PG的mRNA大幅度增加，PG的活性和果实成熟及软化正相关。目前筛选到一些番茄成熟的突变体，如成熟抑制突变体*rin*(ripening inhibitor)和不成熟的突变体*nor*(nonripening)等。其PG酶活性降低，果实不软化，没有呼吸高峰，果实不能正常成熟。一种永不成熟突变体*Nr*(Neverripe)的PG酶和番茄红素的合成减少，果实软化缓慢，保持绿色。成熟突变体成为研究果实成熟的基因调控和激素作用的好材料。

### (二) 果实成熟的调控

**1. 基因工程**

通过基因工程技术控制有关成熟的酶的基因表达，已经有了很大的进展，特别是对番茄的转基因。番茄的PG反义转基因果实，其PG的mRNA减少，PG的活性明显低，果实能保持相当的硬度。如将ACC合成酶cDNA的反义系统导入番茄，得到的转基因植物的乙烯合成被抑制了99.5%，果实不出现呼吸高峰，贮存3～4个月也不变红变软，用乙烯处理则果实成熟。而ACC脱氨基酶基因过度表达的转基因植物，可将ACC大量转变为α-丁酮酸，因而乙烯的生成减少了90%～97%，也可延长贮存期，而且果实的表型和品质都与正常果实无异。也可通过导入S-腺苷甲硫氨酸水解酶基因使SAM水解，从而降低果实中的ACC和乙烯生成。其他还有通过转基因改变果实的颜色或糖的含量等都获得了成功。

**2. 激素调节**

乙烯被认为是成熟激素，一般情况下，主要是通过控制乙烯来调节果实的成熟。乙烯启动果实的成熟决定于乙烯的阈值浓度、作用的时间和果实对乙烯的敏感性。不同的果实成熟的乙烯阈值浓度有很大的差异，如芒果只需0.01ppm，而梨需0.9ppm，比前者高90倍。只有在果实停止增重，呼吸速率降低后，才对乙烯敏感。Yang认为未成熟果实对乙烯不敏感，以至系统Ⅰ乙烯不能诱导果实成熟。因此在应用乙烯进行果实的催熟处理时，要注意这几个因素。可用乙烯生物合成的抑制剂或作用的抑制剂来延迟果实的成熟。

果实成熟的调节也和其他激素相关。ABA可促进果实成熟和衰老。许多跃变型果实在成熟期间，ABA水平上升伴随着乙烯的跃升，或在乙烯水平上升之前，ABA水平上升；而对于非跃变型果实，只有ABA的增加而没有乙烯的增加。外源ABA处理能刺激苹果和番茄的乙烯生产。ABA可能通过乙烯或独立于乙烯而发挥作用，其对果实成熟的调控作用值得深入研究。据研究，生长素影响果实成熟的启动时间，一般可延缓果实的成熟，但不影响果实的成熟程度。细胞分裂素不影响成熟起始时间但降低成熟度。GA的作用和细胞分裂素类似。综合来看，果实成熟可能是多种植物内源激素平衡作用的结果。

# 第五节　植物的衰老

## 一、植物衰老

在植物个体发育的一定阶段，细胞、器官乃至整体的生理活动和功能逐渐衰退，发生了一系列不可逆的变化，衰老(senescence)就是指导致植物各部分功能不可逆衰退的过程。衰老和老化(aging)

不同，老化指植物发育过程中，发生的不包括死亡的那些衰退事件，如种子贮藏过程中生活力衰退劣变、发芽率降低等。

衰老不是简单的被恶劣的环境因子导致的被动的死亡或坏死，而是植物发育进程中自身遗传程序控制的一个阶段，在一定的意义上讲是一种主动控制的过程。在植物发育的一定阶段，老的叶片光合作用功能下降进入衰老程序，将物质运出，被新生的器官再利用；衰老也是一种对环境的适应，衰老的程序的启动也被环境因子所诱导。衰老是不可避免的，但我们可以通过对引起衰老的原因中找出延缓衰老的办法。

## （一）植物衰老的类型

一般将植物的衰老分成四种类型（图 17-12）：① 整体衰老（overall senescence），许多一年生植物，包括主要的农作物，如小麦、玉米、水稻、大豆等植物，即使在适宜生长的条件下，随着果实和种子的产生，植株很快变黄衰老；② 地上部分衰老（top senescence），许多草本多年生植物和灌木，每年的一定时期，地上部衰老死亡，但地下部维持生命，待第二年重新长出茎叶，开始新的一年的生长；③ 脱落衰老（deciduous senescence），落叶树木的叶片发生季节性衰老脱落；④ 渐进衰老（progressive senescence），一些常绿树木，叶片不是在同一时期衰老脱落，而是分批轮换的衰老脱落。

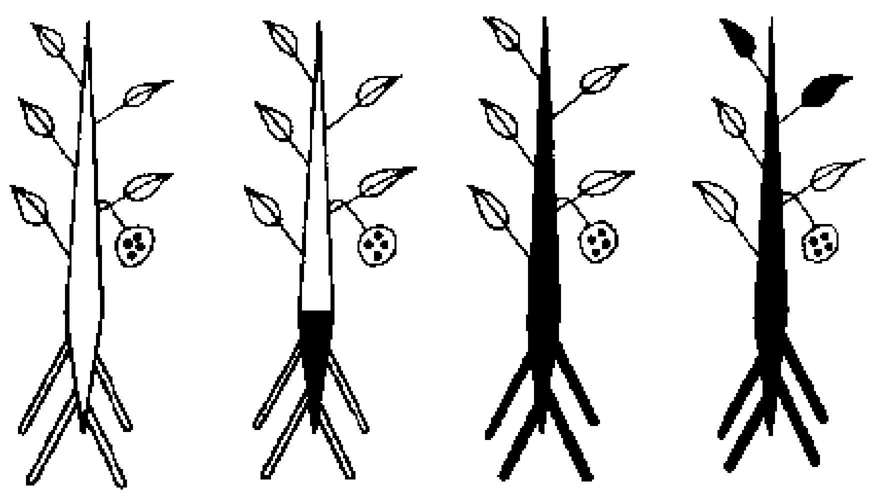



图 17-12　植物衰老的类型（陆定志等　1997）

除叶片的衰老外，其他器官也会走向衰老，如植物的根系，实际上是边生长边衰老，尤其是根毛只有很短的寿命。多年生植物根系可生存多年，但也在不断衰老更新，当整个根系走向衰老时，整株植物势必会衰老至死亡。花的寿命长短随植物而有很大的差异，牵牛花在清晨开放，到午后就开始衰老，至第二天就脱落了，花的各部分衰老从花冠开始，而后是雄蕊，最后是雌蕊；果实的成熟就意味着衰老的开始；一些特殊细胞（表皮细胞、管胞和导管分子）的衰老至死亡就是前面曾讨论过的细胞程序性死亡。由于植物具无限生长的特性，器官的衰老过程实际上发生在植物生活周期的各个时期。

## （二）器官衰老过程中的变化

### 1. 细胞结构变化

在衰老过程中，细胞的结构逐渐解体，首先是叶绿体完整性的丧失，可观察到叶绿体肿胀，膜脂相变，外被膜结构变化和逐渐脱落，基粒数减少，内囊体经囊泡化作用而解体，光合电子传递能力下降；而后核糖体和粗糙内质网急剧减少，失去蛋白质合成能力。随着组织的衰老，内质网膨胀，功能减退；线粒体是较为稳定的细胞器之一，到衰老后期，线粒体嵴扭曲至消失；最后，液泡膜溶解，其中的各种水解酶散布到整个细胞，同时，细胞质 pH 降低，酸性介质的水解酶活跃，消化所有的细胞器，包括细胞核解体，在某些组织细胞中，可看到核物质穿壁现象。最后，膜完全破坏，细胞自溶解体。

### 2. 生理生化变化

在衰老组织细胞中，发生了一系列生理生化变化，以叶片衰老为例，最明显的标志是叶片失去绿色而呈现出红色、褐色或金黄色，也就是叶绿素降解，光合作用迅速下降。呼吸作用较平稳，但叶片变黄时，出现类似果实呼吸跃变的上升，常出现抗氰呼吸。细胞膜脂过氧化作用，核酸总量下降，RNA 含量下降，某些植物叶片在衰老后期又略有增加。细胞内蛋白质分解大于合成，可溶性氮有所增加，

氨基酸不再循环合成蛋白质，而是从叶片运出到新生器官，如发育的种子中。大部分有机物和矿质元素向外撤退、转运到幼嫩的叶片被再度利用。

## 二、衰老的调控

### （一）植物衰老的机制

**1. 营养竞争**

一生中只开一次花的一些植物在开花结实后，通常导致营养体衰老、死亡。早期对衰老机制的解释是营养学说。由于生殖器官是竞争力很强的库，使植物体内同化物再分配，大量养分从营养器官运入生殖器官被再利用，致使营养器官衰老。若摘除花果，可适当延迟叶片和整株植物的衰老。

但是，用营养缺乏的原因并不能解释衰老的所有现象。如一年生雌雄异株植物菠菜，雄株没有很明显的营养物质再分配，同样会衰老死亡。玉米去果穗也不能延迟衰老，有时甚至加速衰老。即使供给已开花结实的植株充分营养，也无法使植株免于衰老。对于二年生植物，更难于用营养竞争的理论来解释其叶片的衰老和脱落。

**2. 自由基与衰老**

具不成对电子的原子、分子或离子称自由基，生物体内存在并影响衰老的自由基有羟自由基（$HO^{\cdot}$）、烃氧基（$RO^{\cdot}$）、超氧化物阴离子自由基（$O_2^{\cdot}$）、超氧物自由基（$HO_2^{\cdot}$ 和 $ROO^{\cdot}$）、单线态氧（$^1O_2^{\cdot}$）等。由于它们均含氧，而其比氧更活泼，又统称活性氧，它们对植物产生氧化伤害。包括促使重要的酶降解，如 Rubisco 等；诱导脂质过氧化反应，而影响膜的结构和功能；加速乙烯的生成而促进衰老。在植物体内存在自由基清除剂，如超氧物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）和过氧化物酶（POD），$V_E$、$V_C$ 和谷胱甘肽等，正常情况下，这些自由基清除剂随时清除所产生的自由基，一旦植物体内抵御氧化伤害的机制效率下降，或产生活性氧的能力增加，二者失去平衡，自由基积累，就会加速衰老。

**3. 激素和衰老因子**

许多证据说明乙烯是诱导衰老的主要激素。不利于生长的环境诱导乙烯产生，促进衰老，特别是促进花和果实的衰老；外源乙烯或 ACC 能加速叶片衰老；乙烯的水平和叶绿素降解相关；乙烯生物合成抑制剂（AVG 或 $Co^{2+}$）或作用拮抗剂（Ag 或 $CO_2$）都可延缓衰老；拟南芥的乙烯不敏感突变体 *etr1* 和 *ein2* 叶片叶绿素降解推迟，衰老速率减慢；利用遗传工程获得 ACC 合成酶的反义 mRNA 植株，乙烯合成能力很低，叶片衰老延迟。

细胞分裂素能明显地延缓衰老，一方面由于细胞分裂素可刺激多胺形成，多胺可抑制 ACC 合成酶的形成而减少乙烯的生成，并可清除自由基；另一方面可能由于细胞分裂素可吸引营养物质而延缓衰老。细胞分裂素延缓叶绿素和蛋白质降解，维持 Rubisco 和 PEPC 的活性，保护膜的完整性，维持 SOD 和 CAT 的活性。

GA 也能阻止叶绿素和蛋白质降解，并清除自由基，而延缓衰老。ABA 却可抵消细胞分裂素和 GA 的作用，促进衰老，有认为 ABA 诱导乙烯的产生而引起衰老，但也有证据表明 ABA 可独立于乙烯起作用。但 ABA 可能并不是衰老中的关键因子。

植物体内存在多种激素，许多生理过程可能不是由一种激素调控的，更可能是随生长发育阶段或环境条件变化而改变了激素平衡，进而引发一些特定的生理过程。植株营养生长时，茎叶产生的生长素与根系大量合成的细胞分裂素运入叶片，促进蛋白质合成，维持叶片正常的生理活动，但在植株开花结实后，根系合成的细胞分裂素减少，花和果实内细胞分裂素增加，成为植株新的生长中心，促使养料运向果实。同时，营养体中合成的生长素和细胞分裂素减少，花或果实中形成的乙烯和 ABA 运出

到营养器官，并推测成熟叶片或果实中产生某种衰老因子 SF 促使营养器官衰老(图 17-13)。

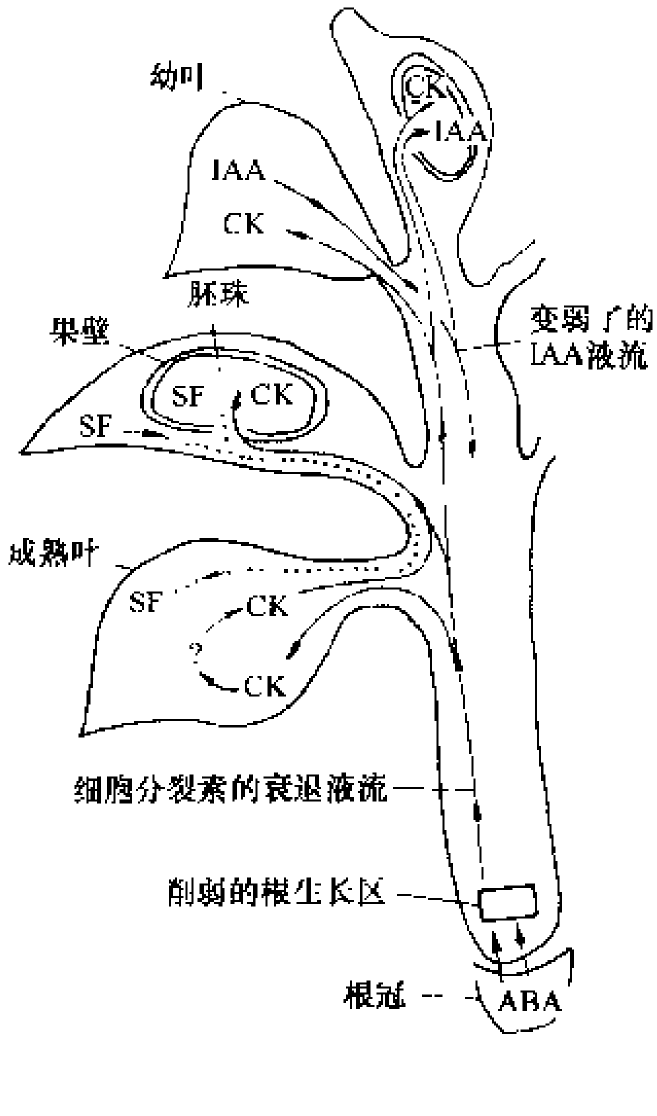



图 17-13 激素在调节植物衰老中的作用假说 (陆定志等 1997)

对于是否存在特殊的衰老因子目前尚无定论。但基于许多一年生植物的衰老多数是在田间迅速发生的现象，在 1978 年提出了“死亡激素”(death hormone)的概念。一般认为，死亡激素是在发育的种子中形成后，通过木质部转运到植物体各个部分。在植物体内存在的生长物质中，茉莉酸和 4-氯吲哚乙酸具有所谓死亡激素的一些特征，能明显地促进器官衰老。

**4. 衰老的遗传控制**

衰老是遗传程序控制的主动发育进程，在衰老早期，发生一系列细胞学和生物化学事件。叶片中多数 mRNA 水平显著下降，这些降低表达的基因称衰老下调基因(senescence down-regulated gene, SDG)，如编码与光合作用有关的多数蛋白质的基因，随叶片衰老而其表达急剧下降。另一类基因是在衰老时被诱导表达的基因，称衰老相关基因(senescence-associated gene, SAG)，或者说其表达是上调的(up-regulated)，所以，也有新蛋白质的合成，许多酶活性增加，其中包括蛋白酶、酸性磷酸酯酶、纤维素酶、多聚半乳糖醛酸酶等，这些酶的活跃使细胞从以合成代谢为主转向降解代谢；尤其是催化乙烯生物合成的 ACC 合成酶和 ACC 氧化酶的基因表达，产生大量乙烯；还有参与降解物转化与再分配的谷氨酰胺合成酶的基因等。对不衰老突变体的筛选和研究，更提供了特定基因表达控制衰老的证据。

细胞程序性死亡 (programed cell death)是植物体内存在的由特定基因控制的细胞衰老事件。它以 DNA 降解为特征，通过主动的生化过程使某些细胞衰亡，形成特殊的组织，如导管的形成等。

## (二) 环境因子对衰老的影响

**1. 光**

光是调控植物衰老的重要因子，植株或离体器官在光下不易衰老，在暗中则加速衰老。其可能的原因是光调节叶片上的气孔开度而影响植物的气体交换、光合作用、呼吸作用、水分和矿质的吸收和运输等主要生理过程。日照长度影响植物激素 GA 和 ABA 的合成，因而影响器官的衰老。光质对衰老也有不同的影响，红光可阻止叶绿素和蛋白质的降解，而远红光可消除红光的作用，可见这也是受光敏色素调控的。蓝光显著地减少叶绿素和蛋白质的降解，延缓衰老。

**2. 温度、水分、矿质营养和气体**

高温和低温都加速叶片的衰老，诱发自由基产生、膜破坏等。

水分胁迫刺激乙烯和 ABA 形成，加速叶绿体结构解体，光合作用下降，呼吸速率上升，加速物质分解，促进衰老。

矿质营养缺乏使植物更快衰老。这时器官之间的营养竞争加剧，为保证新生器官的生命活动正常进行，较老的器官加快衰老。

气体主要指 $O_2$ 和 $CO_2$。$O_2$ 是许多自由基的重要成分，$O_2$ 浓度过高时，加速自由基的形成，当超过其自身防御能力时，就会引起衰老。$CO_2$ 对衰老有一定的抑制作用，特别是在果蔬贮藏中得到应用。

### （三）衰老的人工控制

任何器官的衰老都是和整株密切联系的，在传统的作物栽培措施中，也体现了整体的调控，如合理的肥水控制、源库比例的调节、苗期促进根系的生长等都可有效地控制衰老。根据乙烯/细胞分裂素平衡对衰老的影响，目前在基因工程方面，已将控制乙烯的关键酶 ACC 反义基因导入番茄，使乙烯合成减少而延缓叶片和果实的衰老；同时，也通过控制细胞分裂素合成的关键酶——异戊烯基转移酶的基因表达，使细胞分裂素适量增加，延缓叶片衰老。这些在果实与切花保鲜方面有较大的应用价值。

**1. 果实的保鲜防衰**

鲜果被采摘后还继续进行呼吸、物质代谢等生命活动，发生许多生理生化变化，从成熟走向衰老。鲜果的一个主要的特点是含水量高(70%～90%)，但在贮藏和运输过程中，继续消耗水分和物质，使果实脱水干缩；随果实的成熟衰老，物质转化也影响果实的品质；贮藏条件不适宜时，会受到环境胁迫而致使细胞结构破坏、代谢紊乱，品质变差；还有病虫为害或机械损伤等使果实腐烂。鲜果如失去含水量、鲜艳的色泽、丰富的营养和特有的芳香，就失去了经济价值。

为了保持鲜果的品质，常在贮藏中采用各种保鲜技术：适当的低温贮藏，使果实的呼吸和其他代谢降低到最低限度，并有效地控制了病原微生物的滋生和传播；气调法，将空气中的 $O_2$ 降低到 2%～3%，而将 $CO_2$ 增加到 5%左右，抑制果实的呼吸；薄膜包装，用天然可食提取物直接喷涂在果实上，或用薄膜袋分装，可降低 $O_2$ 而增加 $CO_2$，抑制乙烯生成，保持一定湿度；其他还有化学控制、辐射处理等措施。

**2. 切花保鲜**

许多切花的衰老是由乙烯引发的。但各种花或同一种花的不同发育时期对乙烯的敏感性不同，在花的发育过程中，乙烯水平呈现先降至最低、出现跃变高峰后再下降的动态变化，乙烯形成的高峰期对花的寿命影响最大。其他如水分、温度、$CO_2$ 等也是影响切花衰老的因素。目前普遍采用切花保鲜剂来防止衰老，保鲜剂中主要含适量蔗糖和无机盐以提供营养；乙烯合成抑制剂 AVG、AOA 等，乙烯作用的拮抗剂 STS、2,5-NBD 等以控制乙烯的作用；8-羟基喹啉等杀菌剂；自由基清除剂与抗氧化剂，如苯甲酸和抗坏血酸等；植物生长调节剂如 6-BA 等以延缓衰老。

## 第六节　植物器官的脱落

植物器官衰老的结局往往是脱落，但某一特定器官的脱落并不意味着整株植物都衰老了。叶片、花、果实、种子或枝条等植物的部分器官脱离母体的过程，称为脱落(abscission)。根据引起脱落的原因，可将脱落大致分为三类：由于衰老或成熟引起的器官脱落是正常的脱落，如叶片和花的衰老脱落、果实和种子成熟后的脱落都是正常的生理现象，是发育阶段的必然结果和植物对环境的适应特性；有时因环境条件胁迫和生物因素(病虫害等)导致不正常的脱落(或叫胁迫脱落)；植物本身生理活动可引起生理脱落，如果树、棉花、大豆等的营养生长和生殖生长竞争、源与库不协调等会造成器官的生理脱落。胁迫脱落和生理脱落属于异常脱落。脱落的生物学意义在于植物种的保存，在不适于生长的条件下，部分器官的脱落可减少水分消耗，减少营养竞争，去除病虫害侵染原，有利于存留器官的发育成熟以延续种的生命，传播种子以繁殖后代。异常脱落是农业生产上的严重问题，如棉花的蕾铃脱落率可达 70%左右，大豆的花荚脱落率也高达 70%～80%，茄果类蔬菜和果树的花、果实的脱落都是生产上需要调控的问题。

# 一、脱落的机制

## （一）离　　层

在叶柄、花柄或果柄的基部有一特化的区域，称离区（abscisic zone）。这是器官发育过程中细胞经横向分裂形成的几层细胞，排列整齐，具分生能力，但不扩大，较周围的细胞小，细胞内高尔基体和内质网丰富，器官脱落时的分离就发生在这一区域，称离层（abscisic layer）（图 17-14）。这些细胞可感受某些信号而发生变化，如纤维素酶、果胶酶活性上升，使离区细胞壁水解，在重力或风、雨等其他外力作用下，器官脱落。残茬处细胞壁木栓化，形成保护层。

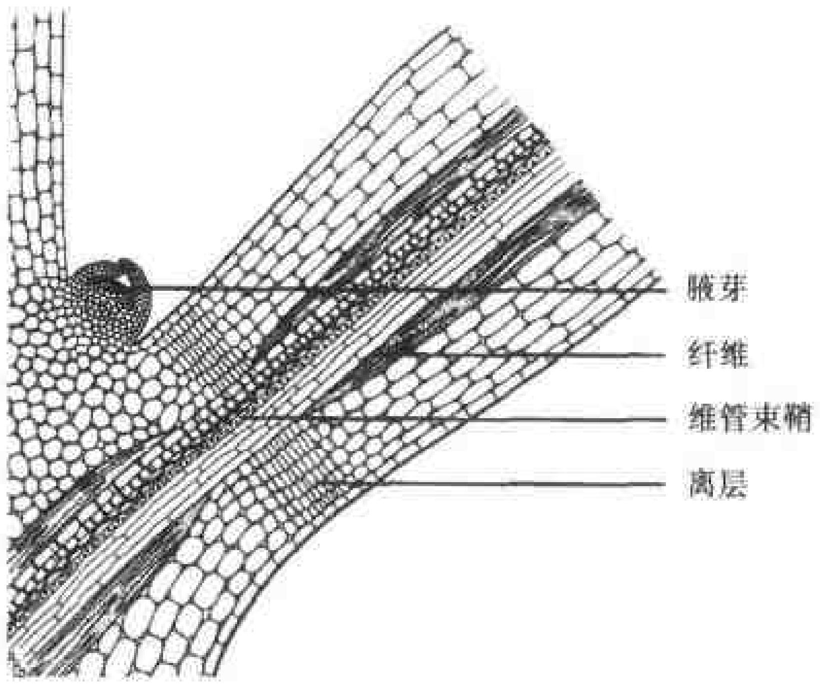



图 17-14　离层（Salisbury & Ross　1992）

## （二）植物器官脱落的激素调控

植物器官的衰老而后脱落是受植物体内的各种激素调节控制的。生长素和器官的脱落有关，切去植物的叶片，残留的叶柄基部很快形成离层，然后叶柄脱落。但如在去叶片后的伤口处涂以含生长素的羊毛脂，则会延迟叶柄的脱落。生长的叶片合成生长素，经叶柄向外运输，而衰老叶片的脱落即由于叶片中生长素的含量下降。但是用生长素处理的不同部位时得到截然不同的结果，将生长素施加到离层区靠茎的一面（近轴端）时，反而促进脱落。Addicott 等提出脱落的生长素浓度梯度学说来解释这一实验结果。决定器官脱落的是离层区两边的生长素浓度梯度，而不是生长素的绝对含量，当生长素的浓度远轴端/近轴端比值高时，不发生脱落，相反，远轴端/近轴端比值低时，加速离层形成而发生脱落。

研究表明乙烯加速离层区细胞衰老是控制脱落的主要因素。在一定的发育阶段和条件下，在离层区存在对乙烯敏感的特殊靶细胞，受乙烯的刺激而分裂扩大，同时诱导许多水解酶的合成和提高酶的活性，如果胶酶和纤维素酶，并加速这些酶向壁区分泌，水解离层区的细胞壁而引起器官的脱落。

生长素和乙烯的关系是什么？按照 Reid 提出激素控制脱落的模型（图 17-15），叶片脱落分三个

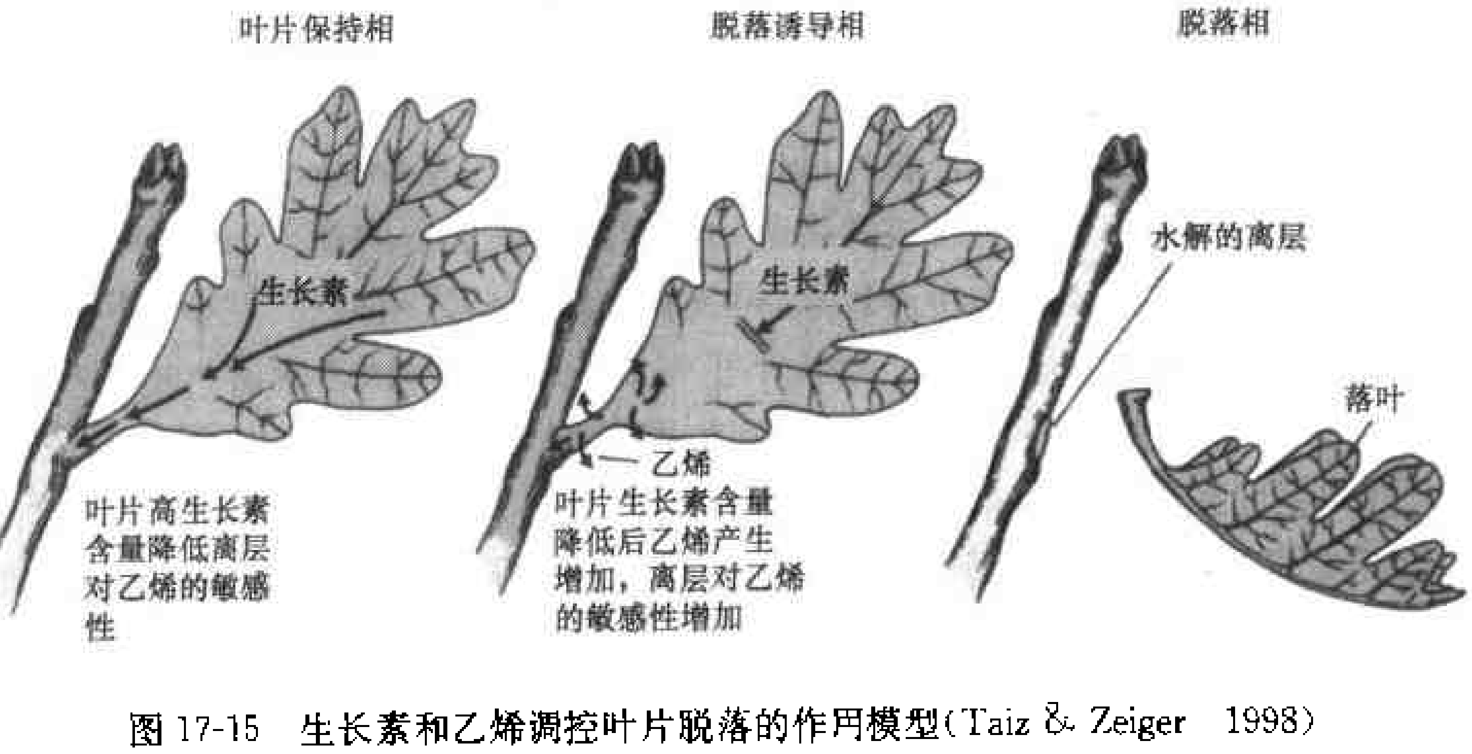



图 17-15　生长素和乙烯调控叶片脱落的作用模型（Taiz & Zeiger　1998）

步骤。①在接收到脱落信号之前，叶片保持健康和正常功能，叶片中合成的生长素不断向外运输，保持叶片和茎之间的生长素浓度梯度，离层区细胞处于非敏感状态。②叶片衰老或环境信号干扰生长素的合成和运输，不能维持生长素浓度梯度，甚至形成反向的浓度梯度，同时，乙烯的含量也增加，又反过来降低生长素的活性，离层区细胞对乙烯敏感性增加，进入器官脱离诱导相。③离层区细胞对低浓度的乙烯反应而诱导合成和分泌果胶酶、纤维素酶等降解壁的酶，水解细胞壁而导致器官脱落。

ABA 在脱落的棉铃中含量很高，导致其发现和命名。ABA 曾被认为是控制器官脱落的主要因子，但后来的证据说明 ABA 能促进衰老，但仅能诱导少数植物器官脱落，引起脱落的激素主要是生长素和乙烯的平衡，而不是 ABA。

GA 和细胞分裂素不是直接减少脱落，可能因为延缓衰老而减少脱落。

果实和叶片脱落之前先进入衰老进程，衰老是诱导脱落的信号，衰老时激素的比例和器官对激素的敏感性发生变化，而导致脱落。但衰老的器官却不一定都脱落。

## 二、脱落的环境信号

光强度和日照长度影响器官的脱落。光照充足时可抑制或延缓器官的脱落，而在弱的光照下，器官容易脱落。在大田生产中，如作物密度过大、光照不足，常使中下部叶片过早脱落。一般情况下长日照延缓脱落，而短日照是脱落的信号。

水分胁迫会导致器官脱落，树木在干旱时落叶，可减少水分的消耗，这是植物的保护性反应。缺水干旱时 IAA 和细胞分裂素活性降低，而 ABA 和乙烯含量大大增加，这样一种新的激素平衡启动脱落过程。淹水使土壤中缺氧，乙烯大量合成，也导致器官的脱落。

异常的温度加速器官脱落。温度升高时，呼吸速率提高，生化反应加快，物质消耗加速，同时高温常导致干旱，因而引起器官脱落。低温是秋天树木落叶的信号之一。

当氧浓度增高时，器官脱落率增加，氧气和脱落的关系与乙烯有关，高氧促进乙烯合成，而诱发脱落。

矿质缺乏时，代谢失调，器官易于脱落。糖等有机营养供应不足也会增加花和果实的脱落率。

## 三、脱落的调控

### （一）防止脱落

在园艺作物特别是蔬菜生产中，用 2,4-D 可防止茄果类植物如茄子、番茄等的落花；用乙烯作用抑制剂硫代硫酸银（STS）控制花和叶片的衰老脱落；在果树生产中发现，果实膨大期间常出现大量落果，如苹果的开花果枝中只有 1/3～1/6 能结果，柑橘的结实率仅 2%～10%。用 NAA 防止采前落果是一项重要的措施，但其缺点是易使果实呼吸跃变提前，不耐贮藏。

低浓度 2,4-D 和 NAA 可减少棉花的早期幼铃脱落，外源 GA 能增加棉花结铃。其他许多生长延缓剂如 CCC、$B_9$、$PP_{333}$等，对防止落铃也有明显效果。

### （二）促进脱落

在果树生产中，常因坐果太多而使果实变小或畸形，严重影响产品质量，结果的大小年现象也不利于果树的生产经营，因此在生产上常进行人工的疏花疏果，可用 NAA 或萘乙酰胺进行果树的疏花疏果，其作用可能是通过增加乙烯的形成诱导离层区水解酶活性而实现的。在生产上还常用 $MgCO_3$ 和 NaClO 作为脱叶剂，使叶片全部脱落，便于机械采收。也可在采前用乙烯利喷洒枣树，使成熟果实脱落，提高采收效率。

# 小　结

高等植物从营养生长向生殖生长转变是发育进程中的关键阶段。到达成年期的植物进入感应态，接受环境信号，启动发育的遗传控制程序，开始花芽分化，形成生殖器官。发育分子机理的研究为我们有效地控制作物的生长发育、提高产量及改善品质提供了新的思路，为发展新的技术提供了理论基础。

植物生殖的一个显著特征是性别的多样性，植物的性别表达既受遗传控制，又受环境条件的影响。植物激素和生长调节剂可有效地调控植物的性别表达，并已在生产上加以利用。植物有性生殖的基本过程是雌雄配子的融合。在雌雄配子发育过程中，大量特异基因表达，许多是和识别及授粉受精有关的蛋白质。识别也是贯穿于授粉、花粉管在花柱中生长及受精整个过程中的一系列信息交流。被子植物花粉管中释放的精子，一个与卵细胞融合，一个与极核融合，完成双受精。

受精后，种子和果实开始发育，种子发育过程中，大量物质运入，并发生代谢转化。这些变化同样是受一系列基因控制的，重要的有两类：一类是种子贮藏蛋白基因大量表达；一类是与种子耐脱水性、成熟和休眠等生理状态有关的基因。许多果实发育过程中出现呼吸跃变，植物激素乙烯是诱导呼吸上升的主要原因，呼吸高峰的出现标志着果实进入成熟，并即将衰老；脱落酸在非跃变型果实成熟中起重要作用。通过基因工程和生长物质的应用，可有效地控制果实的成熟，具有重要的理论意义和经济价值。

植物整体或部分器官的衰老是自身控制的发育进程中一个阶段，已经鉴定了许多和衰老相关的基因。营养竞争、活性氧伤害以及激素平衡的变化都会导致衰老，乙烯和细胞分裂素间的平衡可能是控制衰老的主要激素。

器官脱落是植物适应环境、保存和繁衍后代的方式。离层细胞接受信号刺激，其中的水解酶活跃，使胞壁分解而脱落。生长素和乙烯的相互关系是控制器官脱落的关键。脱落的控制也是农业生产上的重要问题。

**思考题**

(1) 名词解释：感应态和成花决定态，同源异型突变，识别，自交不亲和性，集体效应，无融合生殖，单性结实，呼吸跃变，衰老，自由基，脱落。
(2) 植物的性别表达特点是什么？受哪些因素控制？
(3) 简述花粉的结构特点及其与功能的关系。
(4) 植物如何控制有性生殖？
(5) 简述种子发育过程中的生理生化变化及其基因表达控制。
(6) 说明呼吸跃变与果实成熟的关系。
(7) 说明控制果实成熟的措施及其理论基础。
(8) 试讨论植物衰老的机制。
(9) 分析植物器官脱落的原因。
(10) 试提出防止植物器官衰老和脱落的方案及其生理依据。

# 第十八章 植物细胞信号转导

自然界中的植物生活在多变的环境中。构成高等植物的活细胞须不断地感受、接收各种外界环境信号以及来自相邻细胞的各种化学或物理信号(图 18-1),并作出适当的生理反应以维持其生命活动的进行。本章将主要讨论参与高等植物细胞接受、感受、传递各种内外源刺激信号的细胞因子或组分,以及这些因子之间如何协同作用而完成细胞信息传递过程的分子机制。




图 18-1 **影响植物生长发育的各种环境因子示意图**

**这些环境因子及其强度变化都能分别被植物感受并引发相应的信号转导过程。**

## 第一节 植物细胞信号转导概述

细胞信号转导(signal transduction)指的是偶联各种胞外刺激信号(包括各种内、外源刺激信号)与其所引起的特定生理效应之间的一系列分子反应机制(图 18-2),具体包括细胞感受、传导及放大各种刺激信号的分子机制,以及经传导和放大后的次级信号(第二信使)调控细胞生理生化活动的分子机理等。

在过去的十几年中,有关高等植物细胞信号转导的研究大多是跟踪动物细胞信号转导研究的进展而展开的,甚至是在假定植物细胞中存在类似于动物细胞信号转导机制的基础上、模仿或借鉴动物科学家们的实验方法和思路去证明所假定的理论或机制的正确性。然而,近几年利用模式植物[主要是拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)]及其多种突变体进行研究所取得的研究成果,特别是在拟南芥基因组的全序列测定已经完成(2000 年 12 月)、以及对部分

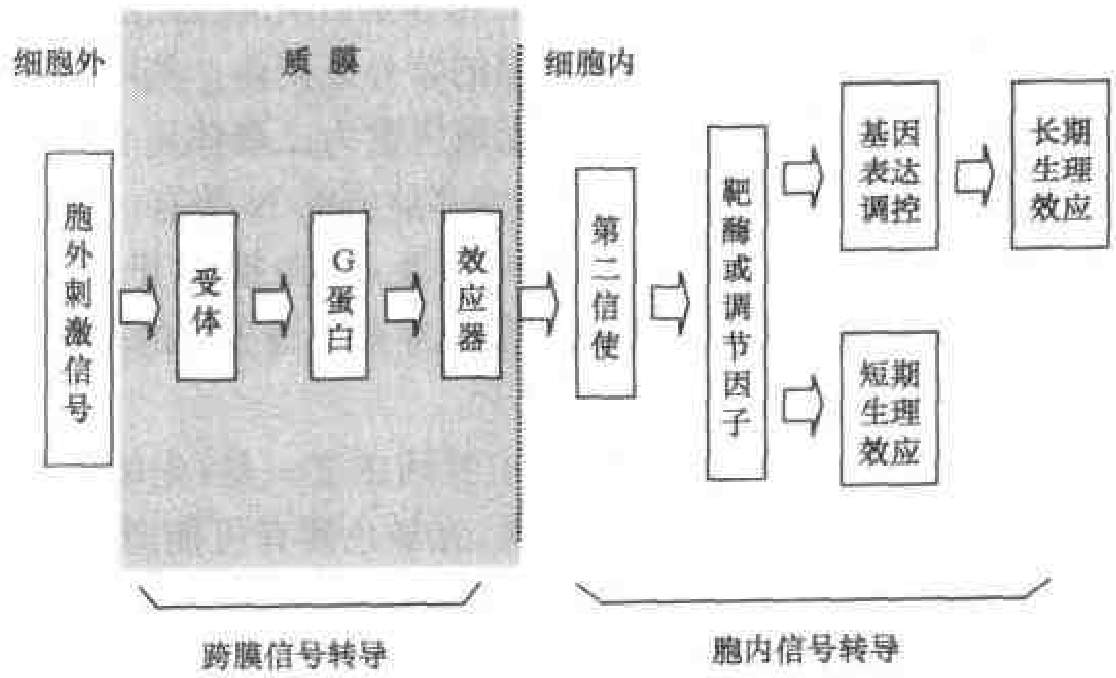



图 18-2 **细胞信号转导模式框图**

基因功能的研究取得重要进展的情况下,植物科学家们已开始认识到一个非常重要的事实:**植物与动物在本质上的不同之处可能恰恰主要表现在两者细胞信号转导机制的差异方面。**

生活在自然环境中的植物"植立不动",当环境条件发生变化时,植物看似"默默忍耐",但实际上其体内却酝酿及发生着一系列"激烈动荡"的活动或过程以努力使其自身适应环境的变化。对于构成多细胞植物个体的某一活细胞来讲,所谓胞外刺激信号包括来自外环境的外源信号(如光照、温度、水分、重力、机械伤害、病原因子等),也包括来自个体内其他细胞的内源信号(如激素、化学调节因子、电信号等)。细胞信号转导的概念于20世纪80年代中期始出现于植物细胞生物学研究工作中,近十年来所取得的成就已极大地丰富了人们对环境因子调节细胞生理生化活动的机制以及不同细胞之间相互作用机理的认识。

据目前积累的资料分析,高等植物细胞除了具有一些与动物细胞类似的信号转导机制之外,还有类似于原核生物的细胞信号转导机制以及高等植物所特有的细胞信号转导机制。

## 第二节　参与细胞信号转导的主要因子

细胞信号转导过程的一个显著特点是,对于任何一种特定的刺激信号都有其特异的信号转导过程,而信号转导过程的特异性依赖于构成信号转导过程的分子机制的特异性。虽然构成不同信号转导过程的分子反应机制是不同的,首先表现为刺激信号及信号受体的不同性质及其特异性,但参与不同信号转导过程的因子或组分却在一定程度上有其相似性,而且有些因子是不同信号转导过程的共同因子。参与细胞跨膜及胞内信号转导过程的主要因子包括受体、G蛋白、第二信使系统(三磷酸肌醇、环化单磷酸腺苷、钙离子等)、蛋白激酶/蛋白磷酸酶、细胞骨架蛋白组分等。其中受体和G蛋白是参与跨膜信号转导的主要因子,而三磷酸肌醇、环化单磷酸腺苷、钙离子等则属参与胞内信号转导的第二信使物质,钙调蛋白、蛋白激酶/蛋白磷酸酶、离子通道等膜功能蛋白、细胞骨架成分等胞质功能蛋白等则作为第二信使下游作用的靶分子而与刺激信号引起的特定生理效应密切相关。

### 一、受　体

受体与刺激信号之间的特异反应是细胞信号转导过程中的第一环。光受体和激素受体是两类研究较多的植物细胞受体。

**1. 光信号受体**

现在至少知道植物细胞有三类光受体,包括对红光和远红光敏感的受体[即光敏色素,(phytochrome)]、对蓝光敏感的蓝光受体、以及对紫外光敏感的紫外光受体。其中对红光和远红光敏感的受体,即光敏色素,研究得较为深人。具生物学活性的光敏色素为二聚体复合结构,其单体为1100多个氨基酸构成的多肽,分子质量为125 kDa左右。在单体多肽链的N端有一与四吡咯生色团共价结合的位点。已经证明,高等植物中存在光敏色素基因家族,如在拟南芥中克隆的*PHYA*、*PHYB*、*PHYC*、*PHYD*、*PHYE*就是分别编码5个不同光敏素脱辅基单链多肽的基因。而不同植物中的光敏色素基因之间存在一定的保守性。

目前关于光敏色素介导的信号转导机制研究的主要问题之一是:光敏色素下游的作用靶分子是什么以及它们之间以何种机制相互作用。有研究表明,光敏色素有可能通过调节蛋白质磷酸化、G蛋白活性、胞质内钙离子浓度等机制进一步发挥作用。对角齿藓(*Ceratodon purpureus*)光敏素的研究表明,它是一光依赖型蛋白激酶,其活性受红光/远红光调节。它的N端为光受体部分,而C端具蛋白激酶活性,其作用机制类似于已在动物细胞中发现的受体蛋白激酶。红光照射可引起小麦原生质体膨胀的同时也引起胞内钙离子浓度的暂时上升,而人为地改变胞内钙离子浓度也可模拟红光处理的效果,这说明钙离子可能参与了光敏色素介导的信号转导过程。利用细胞显微注射方法的研究结果证明,G蛋白以及钙离子和cGMP参与了由光敏色素介导的信号转导过程。有关光信号转导的内

容请参考第十五章的内容。

**2. 激素受体**

自 20 世纪 60 年代人们开始对动物骨骼肌乙酰胆碱受体进行研究以来，有关动物细胞的激素以及其他化学活性因子受体的研究进展迅速。据不完全统计，至 90 年代中期在动物细胞中已分离、鉴定出 400 余种受体。然而对植物激素受体的研究进展一直较为缓慢，除近几年对乙烯受体及其调节因子的研究有突破性进展外，对其他四类植物激素受体的研究仍停留在研究这些激素的结合蛋白阶段，如生长素结合蛋白（auxin binding protein，ABP）、脱落酸结合蛋白（ABA binding protein）等。某种激素的特异受体一定能与该种激素发生特异性结合，而与激素能结合的蛋白又不一定都是激素受体，所以对这些植物激素结合蛋白的研究可能应主要集中在对其活性调节以及生理调节功能方面。本书第十二章对各种不同激素的受体或结合蛋白有详细介绍。需要指出的是，尽管在本书或其他参考书及文献中经常用"植物激素受体"一词，但从严格意义上讲，至少到目前为止对除乙烯受体之外的其他植物激素的结合蛋白仍还不应该用"受体"一词。

从玉米中首先鉴定出的生长素结合蛋白被定名为 ABP1。ABP1 具有许多受体所具有的特性。如用 ABP1 制备的抗体具有抑制生长素生理效应的作用，而 ABP1 抗体的拮抗剂又可模拟生长素的作用。如果假定 ABP1 就是生长素受体，而细胞质膜对 ABP1 抗体不通透的话，则可以推测生长素的受体活性位点位于细胞质膜外侧。然而除质膜外，也已从内质网膜甚至质外体空间鉴定出 ABP1 的存在。位于不同亚细胞结构位点的生长素受体可能在不同条件下各自发挥不同作用，进而调节不同的生理生化过程。这种推测可能解释生长素在植物生长发育过程中的多种不同生理作用的现象。总之，在不同植物中已鉴定出多种不同的生长素结合蛋白，这些不同的生长素结合蛋白有可能同时存在于同一细胞的不同亚细胞结构部位。究竟哪一种或哪几种生长素结合蛋白是生长素受体、位于不同亚细胞结构部位的生长素结合蛋白与生长素的作用机制如何等都有待进一步研究。

植物激素脱落酸（abscisic acid，ABA）对植物的整体生长发育具有重要的调控作用，而且 ABA 又是植物响应逆境胁迫的重要化学信号物质之一，这使得近十几年来围绕 ABA 作用机制的研究工作受到特殊的重视。ABA 的典型生理调节作用之一是可有效地抑制植物叶片气孔的开放或促进气孔关闭，所以关于 ABA 受体及 ABA 作用机理的研究多用气孔的开闭过程及气孔保卫细胞为研究模型。早在 1984 年就有人证明了在蚕豆保卫细胞原生质体质膜上存在与 ABA 高度亲和结合的蛋白质成分。后来，陆续在不同植物及不同组织和器官中鉴定出不同的 ABA 结合蛋白，而且发现 ABA 结合蛋白存在于质膜、内质网、液泡膜、细胞质等不同亚细胞结构区域。根据近几年对 ABA 作用位点及结合蛋白的研究表明，植物细胞外表面和植物细胞内部的不同亚细胞结构位点存在的 ABA 结合蛋白都分别可能具有 ABA 受体的功能。以 ABA 对植物叶片气孔运动的调节为例，ABA 可显著抑制气孔开放，也可促进气孔关闭，但气孔的关闭并非气孔开放的简单逆过程。所以有人认为，ABA 对气孔开放与关闭的调控可能是通过保卫细胞的不同 ABA 受体而发生作用的。

植物激素赤霉素（GA）的典型生理调节作用之一是诱导禾谷类籽粒糊粉层细胞中 α-淀粉酶的合成，因此有关赤霉素受体的研究也多用糊粉层细胞进行。利用光亲和标记方法已证明在谷物籽粒糊粉层细胞中存在至少两种不同的赤霉素结合蛋白（gibbrellin binding protein，GBP），其中的一种成分可能是赤霉素的特异受体。从菜豆上胚轴细胞质中分离出的另一种 GBP 则被证明具有刺激细胞转录活性的作用。而在胞外使用不能通过膜的赤霉素类似物也可诱导糊粉层细胞内 α-淀粉酶合成的证据、以及向糊粉层原生质体胞内注射赤霉素而不能诱导 α-淀粉酶合成的实验结果都表明，细胞感受赤霉素的位点可能在质膜外侧。虽然有研究证明赤霉素可以非解离的形式进行跨膜运转而被活细胞自胞外吸收，而且在胞内也检测到可与有活性的赤霉素成分特异结合的可溶性蛋白成分，但在胞内是否存在 GA 的作用位点尚无明确证据。近年来利用一些与赤霉素作用相关的突变体材料在赤霉素信号

转导研究方面取得了一些进展，但感受及传导赤霉素信号的分子机制的研究尚有待时日。

有关细胞分裂素(激动素)受体的研究报道不多，而对分裂素的信号转导机制也了解较少。虽然已从多种植物的不同组织或细胞中鉴定出多种细胞分裂素结合蛋白(cytokinin binding protein, CBP)，但还没有确认其中的任何一种结合蛋白在分裂素的信号转导过程中起受体的作用。有关 CBP 的研究以对小麦等禾谷类胚中的 CBP 较为深入。利用免疫学方法证明禾谷类胚组织中分离出的 CBP 主要位于环绕胚轴的蛋白体中，但人们认为这类 CBP 与细胞中分裂素结合的主要作用可能在于调节胞内分裂素的浓度，而其本身并非是分裂素的特异受体。有人报道了在烟草中的一种 CBP 类似于 S-腺苷高半胱氨酸水解酶(S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase)，由于 S-腺苷高半胱氨酸是甲基转移酶的抑制剂，所以他们推测分裂素的作用机制可能与一些甲基化反应有关。近来在拟南芥中发现了存在一种与分裂素有关的、类似于细菌双组分信号系统的组分 *CKI1*，*CKI1* 编码一具有组氨酸激酶(HPK)活性的蛋白组分。CKI1 蛋白的 N 端区域被认为可能是分裂素信号的感受区域，而其随后的区域可能对信号的接受与传递负责，所以推测 CKI1 蛋白很有可能是一种分裂素受体。

有关乙烯受体研究的突破得益于拟南芥突变体材料的应用。根据乙烯对双子叶植物黄化幼苗茎、根细胞的伸长有显著的抑制作用(即乙烯的三重反应)，利用模式植物拟南芥具有易被诱变、易于筛选突变体的优点，先后筛选出多个和乙烯作用、乙烯合成以及乙烯生理效应有关的拟南芥突变体。抗乙烯作用的拟南芥突变体被命名为 *etr*(ethylene-resistant)，对乙烯不敏感的拟南芥突变体被命名为 *ein*(ethylene-insensitive)，而持续表现乙烯三重反应的突变体则被命名为 *ctr*(constitutive triple response)。利用拟南芥突变体对植物激素乙烯受体的研究在 1994 和 1995 两年内取得了突破性进展，被公认为是近年来在植物激素受体、植物细胞信号转导乃至植物科学基础理论研究中的重要成果之一。

*etr1* 是抗乙烯作用的突变体之一，现已从 *etr1* 植株中克隆出对抗乙烯作用负责的 *ETR1* 基因。该基因编码乙烯受体蛋白 ETR1。在 *etr1* 植株中，*ETR1* 基因发生突变，乙烯信号不能被植株所感受，因而形成抗乙烯表型。乙烯受体 ETR1 是由 738 个氨基酸组成的多肽，其 N 端为一疏水结构，含乙烯受体活性区域；而 C 端则含有一组氨酸激酶活性区域，如图 18-3A 所示。乙烯受体蛋白的这一结构模式非常类似于细菌中的双组分信号系统。在细菌中，其双组分信号系统包括感受器(sensor)和反应调节器(response regulator)两部分。感受器区域通常定位在膜上，并与一具组氨酸激酶活性的区域相邻。当信号分子与 N 端的感受器结合时，组氨酸激酶被激活并进行自我磷酸化，然后磷酸基团从组氨酸转移至反应调节器区域的天冬氨酸残基上，而反应调节器的磷酸化状态则决定其调节活性。许多细菌的双组分信号系统中的反应调节器是转录的调控因子。由此推测，高等植物的信号转导系统可能在某些方面与原核生物有相似之处。

从 *ctr1* 型拟南芥突变体中分离克隆出的 *CTR1* 基因则是编码在乙烯信号转导过程中起负调节作用的蛋白因子 CTR1。在 *ctr1* 植株中，*CTR1* 基因发生突变，乙烯信号转导过程中的负调节因子缺失，因而形成持续表现乙烯生理效应的表型。如图 18-3B 所示，CTR1 的 N 端为调节活性区域，而 C 端则具有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的特征序列。蛋白质序列分析表明，CTR1 是一丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，它与动物中的 Raf 蛋白激酶极为相似。动物细胞中的 Raf 蛋白是分裂素原激活的蛋白激酶激酶激酶(mitogen-activated protein kinase kinase kinase, MAPKKK)，它可将 MAPKK 磷酸化，而 MAPKK 则进一步将 MAPK 磷酸化，通过这一列激酶催化的磷酸化级联反应，最终实现对细胞分化和生长的调节。据 CTR1 的氨基酸序列推测，CTR1 有类似于动物细胞中 MAPKKK 的作用，而 CTR1 已被证实是乙烯信号转导过程中的负调节因子，故认为植物细胞中乙烯的信号转导过程可能也涉及蛋白质的系列磷酸化反应。

在拟南芥 *ein*(ethylene-insensitive)突变体中克隆出对乙烯敏感性负责的基因 *EIN2*。该基因的

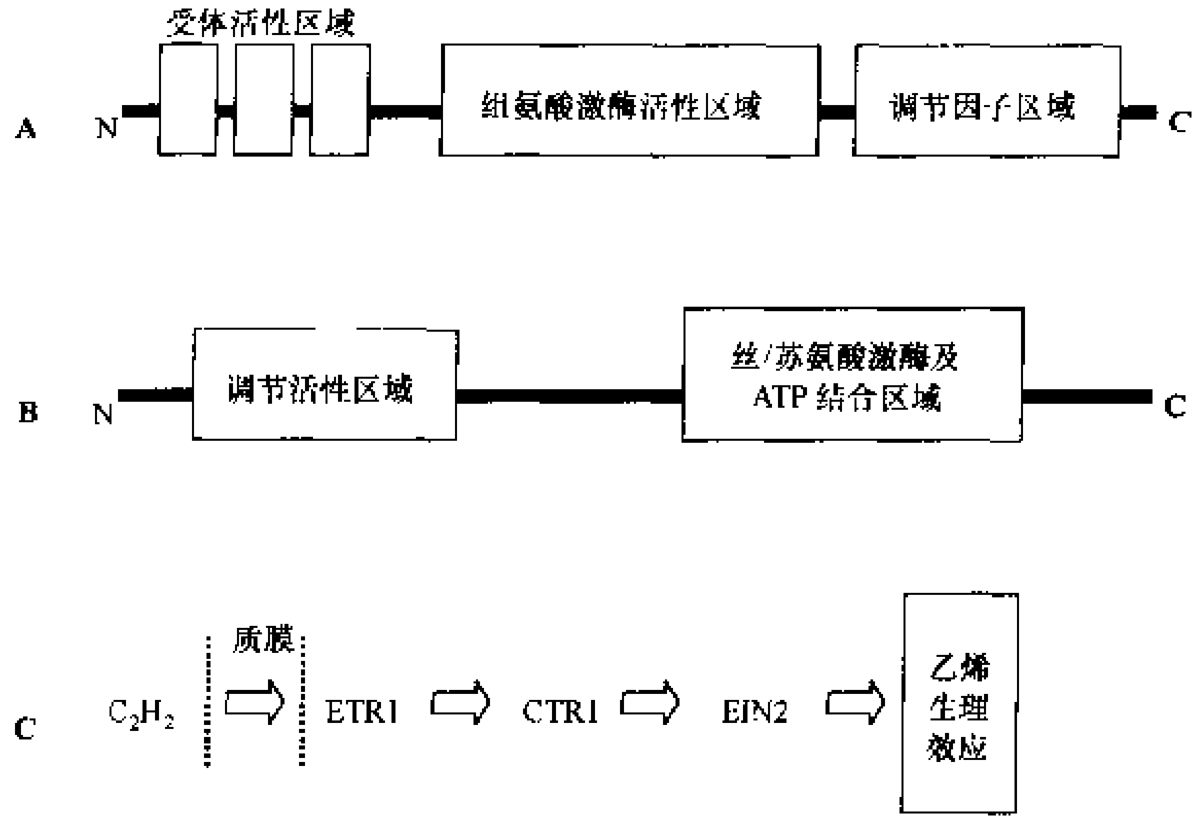



图 18-3 乙烯受体 ETR1(A)及其调节因子 CTR1(B)结构框架和乙烯信号转导模式图(C)

突变导致突变体植株对乙烯的不敏感性。利用双基因突变进行的研究证实，在 ETR1、CTR1 和 EIN2 这三个已知的参与乙烯信号转导的因子之间，ETR1 作为乙烯的受体处于上游，EIN2 则位于下游，而 CTR1 作为负调节因子作用于两者之间。三者介导乙烯信号的传导过程可归纳为图 18-3C 所示模式。

关于乙烯受体以及信号转导机制的研究进展无疑对其他几类激素的受体及信号转导机制的研究将产生积极影响。在乙烯信号转导因子中，乙烯受体 ETR1 与细菌双组分信号传递系统之间、负调节因子 CTR1 与哺乳动物细胞 Raf 类蛋白激酶之间分别具有相似性的特点表明，植物细胞的信号转导系统有可能兼容了低等的原核细胞和高等真核细胞的信号转导机制。

有关乙烯信号转导过程中的相关步骤或生理机制请另参见第十三章内容。

**3. 植物细胞受体样激酶**

在植物细胞中还存在一类与哺乳动物表皮生长因子(EGF)受体相似的蛋白激酶，被称为受体样激酶(receptore-like kinase, RLK)。这类蛋白激酶跨膜存在，其 N 端位于胞外侧，含有与动物细胞受体 N 端类似的糖基化区域，因此可能与刺激信号的感受有关；而 C 端则位于胞内侧，含具有激酶活性的区域。RLK 的胞外侧部位类似于受体，当与某种胞外特异刺激物结合之后，胞内侧激酶的催化活性受其影响而改变。植物细胞中的 RLK 属苏氨酸/丝氨酸蛋白激酶类型，不同于动物细胞中的酪氨酸型受体样蛋白激酶。随着拟南芥基因组计划的迅速进行，近几年发现在植物细胞中存在多种(估计约 300 种左右)可能具有受体功能的丝氨酸/苏氨酸激酶，而迄今尚未在真菌或动物中发现与其相对应的成分(动物中发现的具有受体功能的蛋白激酶主要是酪氨酸激酶，而动物细胞中发现的大多数丝氨酸/苏氨酸激酶属胞质可溶性酶)。有人认为，植物细胞与动物细胞在受体及类受体方面的差异恰恰反映了两类细胞在信号转导的开始阶段就存在差异。显然，揭示植物细胞中这些受体样激酶的分子作用机制将对深入了解植物细胞的信号转导分子机制有特殊重要的意义。

研究较多的植物细胞 RLK 是与植物自交不亲和相关的一些组分，这些受体样激酶最初被称为 S-蛋白。利用甘蓝属 RLK 突变体所获得的研究结果表明，这些 RLK 的调节功能具有特异性，除了与自交不亲和有关外，并不影响植物生长发育的其他过程。与此相一致，这些 RLK 只在甘蓝属植物的花器官中特异表达。而在拟南芥中克隆的数个 *RLK* 基因(*ARK1*、*ARK2*、*ARK3*，以及 *RLK1*、

*RLK4*、*RLK5* 等)虽然与上述的 *RLK* 基因高度同源,但它们的功能却似乎与自交不亲和无关,而且它们的组织表达特异性也各有特点。这说明植物细胞中的各种不同丝氨酸/苏氨酸受体样激酶可能分别具有不同的细胞调节功能。最近有人报道了一种在水分胁迫条件下被激活的、依赖 $Mg^{2+}$ 而不依赖 $Ca^{2+}$ 的苏氨酸/丝氨酸受体样激酶。

虽然利用基因克隆技术已在植物中鉴定出多种 RLK,但作用于它们的上游信号物质为何以及它们的下游作用靶分子为何等许多问题尚不清楚。所以,有关植物细胞 RLK 的功能及调控和作用机制方面的研究可能是未来几年植物细胞信号转导研究领域的前沿课题之一。

## 二、GTP 结合调节蛋白

GTP 结合调节蛋白(GTP-binding regulatory protein,简称 G 蛋白),是活细胞内一类具有重要生理调节功能的蛋白质。此类蛋白由于其生理调节功能有赖于与三磷酸鸟苷(GTP)的结合以及具有 GTP 水解酶的活性而得名。20 世纪 70 年代初首先在动物细胞中发现了 G 蛋白的存在,进而证明了 G 蛋白在细胞信号转导,特别是在跨膜细胞信号转导过程中有重要的调控作用,即 G 蛋白是偶联细胞膜受体与其所调节的相应生理过程之间的主要信号传递者。活细胞内的 G 蛋白一般被分为两大类。一类是由三种不同亚基(α、β、γ)构成的异三聚体 G 蛋白(heterotrimeric G-protein,又称为大 G 蛋白),其 α 亚基含有与 GTP 结合的活性位点,并具有 GTP 酶活性。α 亚基的分子质量范围在 35～55kDa 之间。β 和 γ 亚基的分子质量分别为 35～36kDa 和 8～10kDa,β 和 γ 亚基一般呈稳定的复合状态存在。另一类 G 蛋白是只含有一个亚基的单聚体 G 蛋白,又被称为小 G 蛋白(small G-protein)。小 G 蛋白的结构与功能类似于异三聚体 G 蛋白中的 α 亚基,分子质量在 20～30kDa 之间,有与 GTP 结合的活性位点并具有 GTP 酶活性。小 G 蛋白又分为 ras、rho、rab/ypt 三个亚类,它们分别参与细胞生长与分化、细胞运动、膜囊泡与蛋白质运输等的调节过程。如在生长着的花粉管中,花粉管顶端的不断生长有赖于胞内不断向顶端部位分泌膜囊泡,而 rho 类小 G 蛋白在胞内膜囊泡的分泌及运输过程中起着重要调控作用。

对 G 蛋白的生理调节作用及其机制的认识主要是通过对动物细胞内异三聚体 G 蛋白的研究而取得的。异三聚体 G 蛋白位于膜内侧,并与质膜紧密结合。如图 18-4 所示,当某种内源或外源刺激信号(S)与其膜上的特异受体(R)结合后,激活的受体(SR)将信号传递至 G 蛋白;激活的 G 蛋白可能直接调节某一特定的生理生化活动,也可能通过其他信号传递者间接地调节生理生化活动。在膜上受体被激活的状态下,G 蛋白的 α 亚基与 GTP 结合而被活化。活化的 α 亚基与 βγ 亚基复合体分离而呈游离状态,并进一步通过直接或间接的方式调节相应的生理生化活动。而当 α 亚基所具有的 GTP 酶活性将与 α 亚基相结合的 GTP 水解为 GDP 后,α 亚基恢复到去活化状态并与 βγ 亚基结合为复合体。异三聚体 G 蛋白的这种活化与去活化循环受多种因素控制。在研究工作中可以人为地控制 G 蛋白的活化与去活化过程,从而有目的地研究 G 蛋白在细胞信号转导中的作用机制。最常用的方法是利用 GTP 的类似物 GTPγS 及 GDP 的类似物 GDPβS 来调节 G 蛋白的活性状态。GTP 的类似物 GTPγS 可与 G 蛋白的 α 亚基相结合,但却不能被 α 亚基水解,所以使 G 蛋白处于持续活化状态。而 GDP 的类似物 GDPβS 一旦与 G 蛋白结合,则阻止了 G 蛋白与 GTP 的结合,使 G 蛋白处于持续抑制状态。另一类常用的研究手段是使用两种从细菌中提取的毒素来调控 G 蛋白的活性。这两种细菌毒素分别是霍乱毒素(cholera toxin)和百日咳毒素(pertusis toxin)。两种毒素的作用都是可将 G 蛋白 α 亚基的某一位点进行 ADP-核糖基化(ADP-ribosylation),结果使 G 蛋白不能进行正常的活化与去活化循环。一般认为,霍乱毒素对 G 蛋白 α 亚基进行 ADP-核糖基化的结果使得 α 亚基失去 GTP 酶活性,从而使 G 蛋白处于活化状态。而百日咳毒素对 α 亚基上的不同位点进行 ADP-核糖基化,使与 G 蛋白结合的 ADP 不能解离,阻止了 G 蛋白与 GTP 的结合,结果使 G 蛋白处于抑制状态。但现

在已经知道，在不同生物体中两种毒素对于不同G蛋白的调节作用可能有所不同。

植物细胞G蛋白的研究始于20世纪80年代中后期，近十年来利用cDNA、基因克隆、基因转移、蛋白质生物化学、生理学、电生理学等技术不仅已证明了G蛋白在高等植物中的普遍存在，而且也已初步证明G蛋白在植物对光和激素的生理效应、植物细胞跨膜离子运输、植物组织和器官的形态建成等细胞信号转导过程中有重要调节作用。迄今有关植物细胞异三聚体G蛋白的研究还仅局限于对其α亚基的研究。虽然尚未将α亚基分离纯化，但已在多种不同植物中证明了它的存在。从不同植物中鉴定出的G蛋白α亚基的分子质量有所不同，但它们的氨基酸序列中都含有与已知α亚基近乎相同的保守区域。例如，根据G蛋白α亚基的cDNA克隆所推衍出的拟南芥和蕃茄细胞中α亚基的氨基酸序列中含有保守性较高的区域。而在同种植物中存在分子质量不同的G蛋白，又恰恰说明植物细胞中的多种不同生理过程可能分别由不同的G蛋白调控。

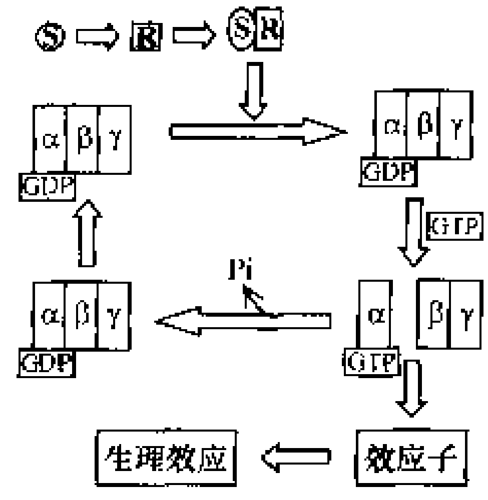


图 18-4　异三聚体G蛋白作用模式图

一些研究表明，植物细胞G蛋白可能参与和光敏色素以及其他植物色素有关的生理调节过程。从黄化豌豆幼苗中分离出的G蛋白α亚基的GTP酶可被蓝光激活，说明G蛋白可能参与植物对蓝光的生理效应过程。从黄化燕麦幼苗分离得到的质膜组分中存在能与GTP可逆结合的组分，其活性受红光及远红光的调节，该质膜组分中同时存在能被G蛋白α亚基抗体及霍乱毒素所鉴别的分子质量为24kDa的多肽。霍乱毒素处理可抑制光敏色素mRNA的积累。利用光敏色素缺陷型番茄细胞进行的研究结果表明，G蛋白参与了光敏色素信号转导的早期过程。利用膜片钳(patch clamp)技术的研究结果表明，蚕豆保卫细胞质膜上的内向钾离子通道受膜上G蛋白的调控。当使用GTPγS处理使G蛋白处于活化状态时，保卫细胞质膜上的内向钾离子通道受到显著抑制；而用GDPβS处理后的处于抑制状态下的G蛋白则有促进质膜上内向钾离子通道活性的作用。植物细胞G蛋白对膜上钾离子通道的调节作用在全细胞记录和分离膜片记录中都得到了证实。植物细胞G蛋白通过对膜上离子通道的调节而参与细胞信号转导过程的分子机理是很值得进一步探讨的研究工作。

植物细胞G蛋白还可能与植物激素的信号转导过程有关。赤霉素可引起黄化小麦原生质体的吸胀，而G蛋白抑制剂可消除赤霉素的作用。G蛋白对赤霉素生理调节作用的影响可能与G蛋白、光敏色素、赤霉素之间的交互作用有关。生长素可促进GTPγS与水稻胚芽鞘细胞的结合，而GTPγS则减少生长素与胚芽鞘细胞的结合。这说明生长素可能促进该类细胞中G蛋白的活化，而处于活化状态的G蛋白则可能通过影响生长素受体而抑制生长素与细胞的结合。另一方面，生长素又具有促进水稻胚芽鞘细胞膜组分中GTP酶活性的作用。

植物细胞G蛋白还可能与膜上由磷脂酰肌醇(inositol phospholipid)类物质生成磷酸肌醇信使物质的过程有关，而磷酸肌醇类物质($IP_n$)已被证明是细胞信号转导机制中的重要因子，这表明植物细胞G蛋白可能通过磷酸肌醇信使而进一步传递信号。此外，G蛋白可能对植物细胞中蛋白质的磷酸化与去磷酸化过程也有调节作用，而G蛋白的这种作用有可能与其对细胞内cAMP水平的调节有关。有研究表明，霍乱毒素和百日咳毒素能促进真菌诱导因子对菜豆培养细胞的影响，这说明G蛋白也可能参与病原菌感染植物细胞的信号识别与传递过程。

## 三、环化单磷酸腺苷

如果将来自胞外的各种物理和化学刺激信号作为细胞信号转导过程中的初级信使或初级信号(primary stimuli或initial signal)的话，这些胞外刺激信号经过跨膜信号传递等一系列步骤之后，必须通过影响胞内的某种或某些因子的变化进而调节细胞的生理生化活动。由胞外刺激信号激活或抑制

的(或引起改变的)、具有生理调节活性的细胞内因子被称为细胞信号转导过程中的次级信号或第二信使(second messenger)。环化单磷酸腺苷(cAMP, cyclic adenine monophosphate)是在活细胞内最早被发现的一种重要的第二信使。

在动物细胞中早已证明了cAMP是重要的第二信使物质。一般认为,当某些胞外刺激信号作用于动物细胞时,被刺激信号激活的细胞质膜上的相应受体通过G蛋白的介导促进或抑制膜内侧的腺苷酸环化酶,从而调节胞质内的cAMP水平;cAMP作为第二信使激活蛋白激酶A(PKA);PKA包括催化亚基和调节亚基两部分,PKA被激活后其催化亚基和调节亚基相互分离而分别调节细胞活动。其中催化亚基进入细胞核催化cAMP应答元件结合蛋白(cAMP response element binding protein, CREB)的磷酸化作用,被磷酸化的CREB激活核基因序列中的转录调节因子cAMP应答元件(cAMP response element, CRE),导致被诱导基因的表达(图18-5)。在动物细胞中存在两类G蛋白,它们分别具有激活和抑制膜内侧腺苷酸环化酶的作用。虽然自20世纪70年代人们就开始研究植物细胞内的cAMP,但至今仍未确切证明cAMP是否在植物细胞中存在以及是否也具有作为胞内第二信使的作用。

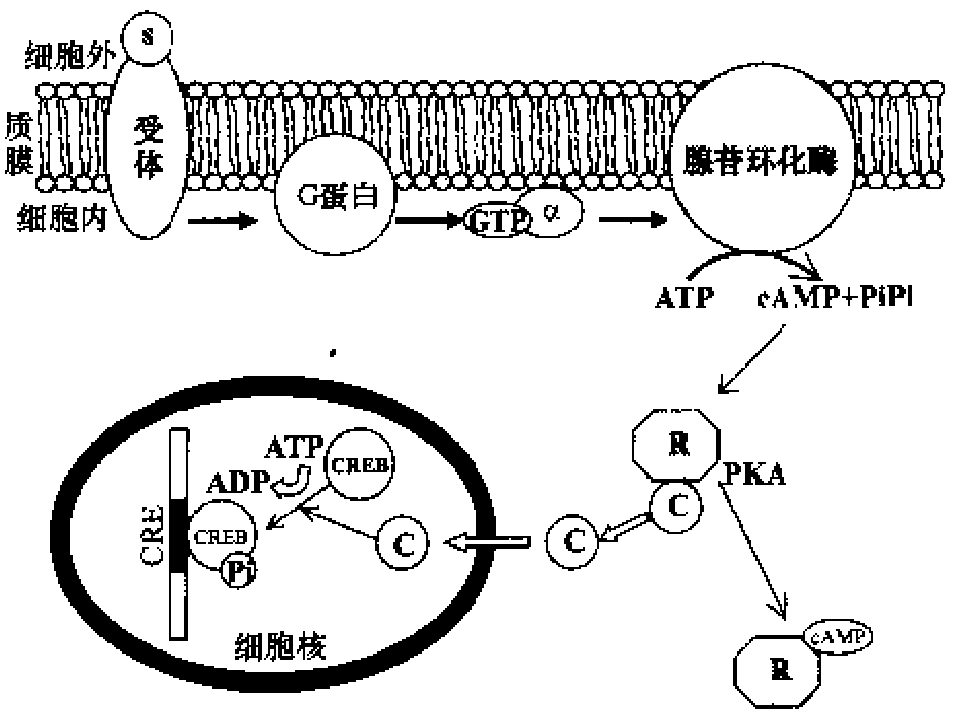


图18-5　cAMP信号转导途径示意图

胞外刺激信号(S)激活质膜上受体(R),受体激活与其偶联的下游G蛋白,激活的G蛋白α亚基作用于与质膜连接的腺苷环化酶,cAMP被合成。cAMP作用于蛋白激酶A(PKA),被激活的PKA的催化亚基(C)和调节亚基(R)相互分离。C亚基进入细胞核,催化cAMP响应元件结合蛋白(CREB)的磷酸化,磷酸化后的CREB与核染色体DNA上的cAMP响应元件(CRE)结合,调控基因的表达。

有人曾总结了研究植物细胞cAMP的进展情况,认为要明确是否植物细胞也存在类似于动物细胞中的cAMP第二信使系统,首先应验证下述命题:①高等植物细胞中是否普遍存在内源cAMP;②生理浓度的cAMP是否可引起植物细胞的生理生化效应;③植物细胞内是否存在合成和降解cAMP的酶;④植物细胞内是否存在cAMP的靶蛋白。

迄今为止,仍未明确证明是否高等植物中普遍存在cAMP。虽然在一些植物中已测定到cAMP的存在,但除了浓度远低于动物细胞中的有效生理浓度外,由不同实验室在不同植物中所测得的细胞cAMP的浓度变异非常大,大约在$5\times10^{-10}$～$8\times10^{-8}$mol/L的范围之间。而在动物细胞中的cAMP浓度则在$1\times10^{-7}$～$5\times10^{-7}$mol/L之间。更为关键的是,许多研究工作发现,能够引起植物细胞生理效应的外加cAMP的浓度在$10^{-3}$mol/L水平。这就意味着,即便假定植物细胞中cAMP的浓度确实较低而且变化较大,内源的cAMP也可能不足以引起细胞的生理效应。另一方面,也有个别研究报道了$10^{-9}$mol/L水平的外加cAMP可以引起植物细胞的某些生理效应。当然,植物细胞内cAMP的总体水平较低并不能排除细胞内某些特定部位或区域的cAMP浓度较高的可能性,而且在植物细胞的不同生长发育期也可能胞内的cAMP浓度不同,这使得至少到目前还不能排除cAMP作为植物细胞第二信使的可能。

而cAMP是否作为第二信使参与植物细胞的信号转导过程的另一类证据有赖于对cAMP合成和降解系统的研究,主要是对腺苷酸环化酶和磷酸二酯酶的研究。最近有人自植物中检测到类似于腺苷酸环化酶的蛋白,并且证明该蛋白有合成cAMP的作用。对拟南芥基因序列的分析结果表明,植物核基因中含有CRE序列以及编码CREB的序列。将拟南芥中含有CRE序列的启动子用于以酵母为材料的基因表达,发现这些启动子确实受cAMP结合蛋白的调控。乙烯受体ETR1的基因序列中

包含有一段可能受 cAMP 调控的 DNA 序列。

最近有研究结果表明，虽然 cAMP 单独存在时对植物叶片气孔的开放以及气孔保卫细胞钾离子通道无明显影响，但 cAMP 可以显著逆转 ABA 和 $Ca^{2+}$ 对气孔开放及内向钾离子通道的抑制作用。另有研究证明，促进叶片气孔关闭的信号是通过腺苷环化酶而被传递的。由这些研究结果推测，cAMP 可能作为植物细胞信号转导过程中的反馈调节因子而发挥作用，具体地讲，植物细胞中 cAMP 可能主要是通过与其他信使的交互作用(cross-talking)而表现其生理调节功能，探讨 cAMP 与其他信使物质的相互作用这一思路可能有助于阐明 cAMP 在植物细胞信号中的作用机制。其他许多研究也都表明 cAMP 信使系统很可能是植物细胞信号转导中较为普遍的机制，如花粉管的伸长生长受 cAMP 的调控、腺苷环化酶可能参与花粉与柱头间不亲和性的表现、根际微生物因子作用于根毛细胞后导致根毛中 cAMP 浓度上升等。至于植物细胞中 cAMP 的下游作用机制是否也可能类似于动物细胞而主要通过 PKA 而实现其调节功能(图 18-5)，也是很值得研究的科学问题。

## 四、钙与钙调蛋白

$Ca^{2+}$ 在植物细胞的多种信号转导过程中都有非常重要的调节作用，特别是在植物适应各种环境胁迫的过程中起着关键作用。在过去的十几年间，有关植物细胞 $Ca^{2+}$ 信使的研究工作主要是集中在证明 $Ca^{2+}$ 信使是否参与了某一信号转导过程，而有关 $Ca^{2+}$ 信使的上游产生机制及下游作用机制则研究较少。植物细胞胞质内游离 $Ca^{2+}$ 的水平主要是通过质膜与内膜系统上的 $Ca^{2+}$ 通道及 $Ca^{2+}$ 泵来调节的，这与动物细胞较为相似。而植物细胞中 $Ca^{2+}$ 信使的下游作用机制可能与动物细胞差异较大。在动物细胞中，$Ca^{2+}$ 主要是通过与钙调素(CaM)等调节蛋白形成复合物后作用于靶蛋白(如各种酶)。但在植物细胞中虽然也存在钙调素等调节蛋白，但近几年的研究愈来愈表明，植物细胞中存在一类特有的既能直接与 $Ca^{2+}$ 结合、同时又具有蛋白激酶活性的酶类，称为钙依赖型蛋白激酶(calcium-dependent protein kinase, CDPK)。根据对拟南芥基因组的分析表明，在高等植物中至少存在 40 种以上的 CDPK。虽然对 CDPK 调节功能的研究才刚刚开始，但已经有环境胁迫可诱导某些 CDPK 表达、CDPK 对植物细胞质膜离子通道的磷酸化以及调节作用等实验证据报道，很有可能植物细胞中的多种 CDPK 分别参与不同的信号转导途径。

植物细胞内的游离钙离子已被许多研究工作证实是植物细胞信号转导过程中的重要第二信使。研究证明，几乎所有不同的胞外刺激信号都能引起胞内游离钙离子浓度的变化，如光照、触摸、重力、温度等各种物理刺激和各种植物激素、病原菌诱导因子等化学因子(图 18-6)。已经证明多数胞外刺激信号都引起植物细胞内游离钙浓度的上升，虽然也发现有少数几例胞外刺激信号也可引起胞内钙浓度的下降，而植物细胞内游离钙离子浓度的微小变化可能显著影响细胞的生理生化活动。由此而引出的一个问题是：由钙离子浓度变化而介导的信号转导的特异性将如何被体现？所以自 20 世纪 80 年代末以来，这方面的研究多集中在探讨胞内钙浓度变化的时空特点，诸如钙离子浓度上升的速度、幅度、频率、区域化分布等特点。近年来的许多研究表明，胞内钙离子信号的特异性有可能通过钙离子浓度变化的不同频率特点和区域特异性来体现。如在生长的花粉管顶端区域就存在一显著的钙离子浓度梯度，最顶端的钙离子浓度最高，而这一钙离子浓度梯度的存在是花粉管持续伸长的必要条件。在花粉管持续伸长过程中，顶端钙离子浓度还呈现出周期性的上升和回落，每一变化周期的时间约为 25～30 秒左右。而豆科植物根毛细胞在根瘤菌

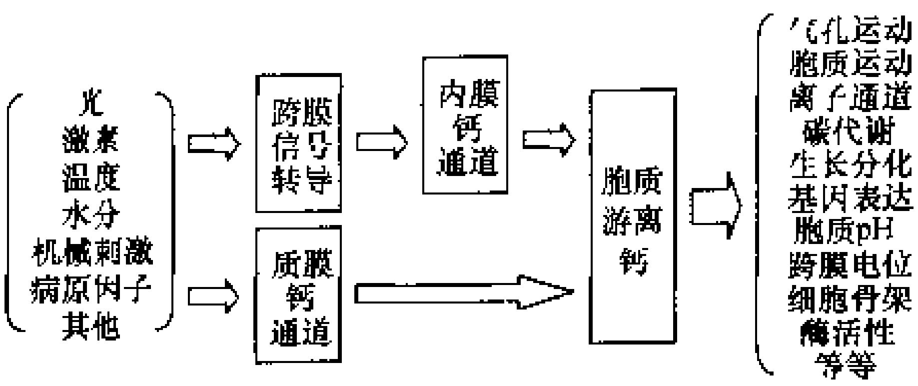



图 18-6　钙参与植物细胞信号转导示意图

作用下发生弯曲反应及后来根瘤的形成过程中，根毛细胞中钙离子浓度的变化也呈现出周期性的上升与回落，每一周期的时间约为1分钟。可见，胞内不同钙离子浓度的区域化现象以及钙离子浓度的周期性变化与细胞的特异生理功能相联系。然而，要通过研究胞内钙离子浓度变化的时空特点而解释钙离子信号的特异性仍需广泛深入的研究。

胞内游离钙离子浓度的变化主要是通过钙的跨膜运转或钙螯合物的调节而实现的。已经在质膜、液泡膜、内质网膜上发现钙离子泵和钙离子通道的存在，说明细胞质与胞外环境及胞内亚细胞结构内部之间存在钙离子的运输或交换。如从玉米等植物细胞质膜中已分离鉴定出钙离子泵和钙离子通道的存在。而在液泡膜上则已发现了 $Ca^{2+}/H^{+}$ 交换系统、钙离子泵、以及几种钙离子通道的存在。如图18-7所示，膜上的钙离子泵的作用在于不断将钙离子从胞质内泵至胞外或液泡内。由于在胞外环境和液泡内的钙离子浓度约在 $10^{-3}$～$10^{-4}$mol/L 范围，膜上钙离子泵的活动是维持胞内较低钙离子浓度的重要机制。而质膜和液泡膜上的钙离子通道则在一些调节因子的作用下可短暂地开放，结果使胞内钙离子浓度暂时升高，如 $IP_3$ 的作用就是激活内膜系统（如液泡或内质网）上的钙离子通道。总之，膜上的钙离子运输系统在调节胞内钙离子浓度方面至关重要，钙离子泵和钙离子通道活性的调节是细胞信号转导过程中的重要环节（有关钙离子跨膜运输及其调节机制参见第四章）。

细胞内游离钙离子浓度变化可能直接或间接地影响细胞的生理生化活动。植物细胞膜上的一些离子通道可能直接受钙离子调控，如保卫细胞质膜上的内向钾离子通道可被钙离子抑制，而外向钾离子和氯离子通道则可被钙离子激活等。有些酶的活性直接受钙离子的调控，如植物细胞中的一些钙依赖型蛋白激酶等。胞内钙离子也可通过钙调素（calmodulin，CaM）间接地调节生理生化活动。CaM是一类普遍存在的钙结合蛋白，它有一非常保守的由四个EF手型构成的钙结合区域。CaM在与钙结合后被激活，进而激活依赖 $CaM/Ca^{2+}$ 的蛋白激酶或其他调节蛋白。尽管已利用分子克隆技术鉴定出多种钙调素及其相关蛋白，但对它们在细胞信号转导中的明确作用却仍待研究。

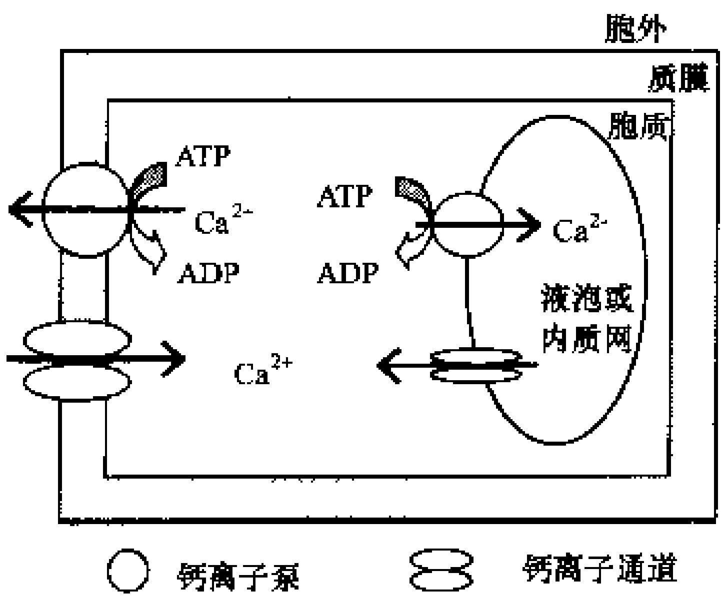



图18-7 植物细胞质膜及内膜钙离子运输系统

## 五、三磷酸肌醇

在动物细胞中，除钙离子和cAMP外，三磷酸肌醇（$IP_3$，inositol 1,4,5-triphosphate）是又一种重要的胞内第二信使。与cAMP的情况不同，在植物细胞中业已证明了 $IP_3$ 可作为胞内信使参与植物细胞的信号转导过程。$IP_3$ 由存在于质膜上的磷酯酰肌醇水解产生，已经证明植物细胞质膜中磷酯酰肌醇类物质的含量大约是动物细胞质膜中的两倍，而且参与水解磷酯酰肌醇物质以生成 $IP_3$ 的酶类（包括磷脂酶C、磷酯酰肌醇激酶等）也已在植物细胞中发现。一些研究表明，许多胞外刺激信号可引起胞内磷酯酰肌醇类物质代谢上的变化，这些刺激包括光照、激素、渗透震动、细胞降解酶类等。在动物细胞中，$IP_3$ 作为胞内信使的进一步作用主要是促进细胞内膜系统释放钙离子至细胞质内，即所谓 $IP_3/Ca^{2+}$ 信号传递系统（图18-8）。在植物细胞中已初步证明在胞内液泡膜上可能存在 $IP_3$ 受体或作用位点，其作用可能与调节由液泡向细胞质的钙离子释放有关，从而影响胞质内游离钙离子的浓度。人为地将 $IP_3$ 引入气孔保卫细胞，可引起保卫细胞胞质内游离钙离子浓度增加，钙离子进而抑制质膜上的内向钾离子通道，最终导致气孔的关闭。

伴随 $IP_3$ 生成的另一产物是二酯酰甘油（diacylglycerol，DAG）。在动物细胞中已经证明DAG

也是胞内的信使物质，它通过激活蛋白激酶 C(protein kinase C，PKC)而参与动物细胞的信号转导过程(图 18-8)，但在植物细胞中迄今仍未证实类似于动物细胞中 PKC 类酶的存在。虽然有人曾报道过 DAG 有促进保卫细胞质膜上质子泵以及气孔开放的作用，但有关 DAG 在植物细胞信号转导过程中的作用还远不清楚。

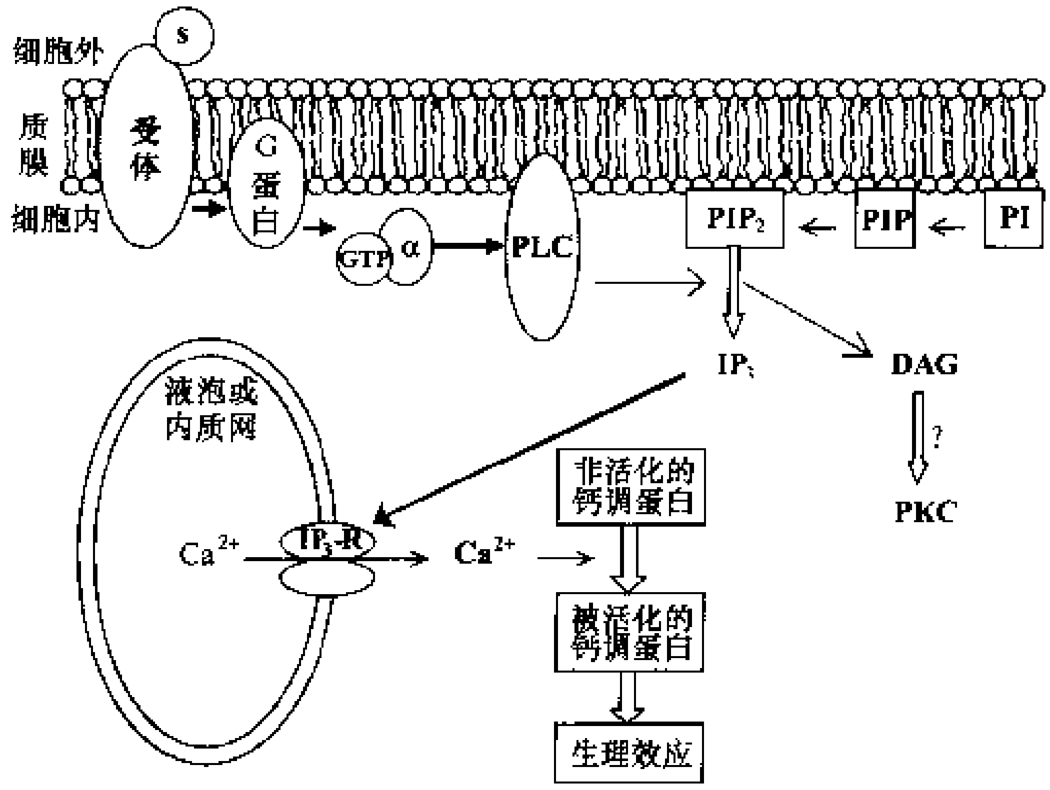



图 18-8 $IP_3$信使的产生及其作用途径

胞外刺激信号(S)激活质膜上受体(R)，受体激活与其偶联的下游 G 蛋白，激活的 G 蛋白 α 亚基作用于与质膜连接的磷脂酶 C(PLC)。膜上的磷酯酰肌醇(PI)被磷酸化形成 $PIP_2$，$PIP_2$ 在磷酯酶 C 的作用下被水解成 $IP_3$ 和 DAG。$IP_3$作用于细胞内膜(如液泡膜、内质网膜等)上同时具有 $IP_3$受体($IP_3$-R) 和钙离子通道功能的蛋白，结果使钙通道被激活、胞内钙库中的钙离子被释放至细胞质中。胞内非活化的钙调蛋白(如钙调素、钙依赖型蛋白激酶等)被激活，进而引起相应的生理效应。在植物细胞中DAG是否像动物细胞通过蛋白激酶C(PKC)而发挥作用尚不明确。

## 六、蛋白激酶和蛋白磷酸酶

在动物细胞中已经证明，胞内许多功能蛋白的活性调控是通过磷酸化/去磷酸化过程而实现的。细胞内多种蛋白激酶和蛋白磷酸酶正是前述几类胞内信使进一步作用的靶分子。换言之，胞内信使通过调节胞内蛋白质的磷酸化或去磷酸化过程而进一步传递信息。

### (一) 蛋白激酶 A 和蛋白激酶 C

在动物细胞中研究较多的是蛋白激酶 C(PKC)和蛋白激酶 A(PKA)两类蛋白激酶。PKC 类有十种不同的蛋白，分为三组。PKC 的激活因子有 DAG、$Ca^{2+}$、磷酯酰丝氨酸等。不同的 PKC 可被不同的激活因子所激活，但所有的 PKC 的激活都依赖于磷酯酰丝氨酸的作用，而多数 PKC 同时也依赖于 $Ca^{2+}$ 的作用。PKA 类也有多种不同的形式，但它们的活化都依赖于 cAMP 的存在，故又被称为 cAMP-依赖型蛋白激酶。到目前为止，尚未明确证实植物细胞中是否存在 PKC 和 PKA。

### (二) 钙依赖型蛋白激酶

在 20 世纪 80 年代末期，人们在植物细胞中发现了一类具有重要生理作用的蛋白激酶，即钙依赖

型蛋白激酶($Ca^{2+}$-dependent protein kinase, CDPK)或钙调素样结构域蛋白激酶(calmodulin-like domain protein kinase, CDPK)。由于近年来关于CDPK的研究发展较快,有人预测CDPK有可能是植物细胞所特有的、在植物细胞信号转导中最为重要的一类蛋白激酶。

1987年首先从大豆培养细胞中分离鉴定出CDPK,随后证明了CDPK具有与CaM相似的调节结构域。近来的研究工作陆续证明,CDPK是植物细胞中一个蛋白激酶家族,而且这一家族的成员尚未在动物及真菌中发现。对拟南芥全基因组序列的分析表明,拟南芥中存在大约40种CDPK。CDPK类蛋白激酶在其N端有一激酶活性区域,而在其C端有一类似于钙调素(calmodulin, CaM)的结构区域,而在两者之间存在一由31个氨基酸组成的自身抑制区域(autoinhibitory domain)(图18-9)。在C端的钙调素结构域中含有四个EF手型的钙离子结合位点。当钙离子与CDPK结合时,其自身抑制区域对激酶活性的抑制被解除,CDPK被活化。这类激酶的活性只依赖于钙而不依赖于钙调素。现在已经知道的可被CDPK磷酸化的作用靶分子(或底物分子)有细胞骨架成分、膜运输成分、质膜上的质子ATP酶等。如从燕麦中分离出的与质膜成分相结合的CDPK成分可将质膜上的质子ATP酶磷酸化,从而调节跨质膜的质子运输,进而实现对胞质pH、膜电位、跨膜离子运输的调控。

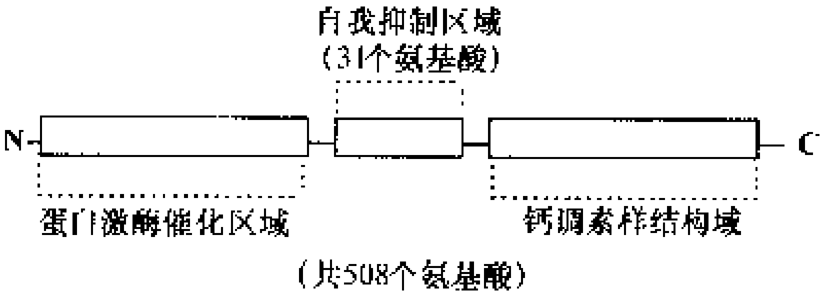


图18-9　CDPK-α结构示意图

此外,CDPK还对气孔保卫细胞液泡膜上的$Cl^-$离子通道、质膜上的$K^+$离子通道有调节作用,并且已发现CDPK在体外可磷酸化保卫细胞钾离子通道蛋白。利用叶片表皮组织通过免疫组织化学方法证明,CDPK只在气孔保卫细胞内中表达,但并不在表皮细胞中表达。这些实验证据说明CDPK可能在气孔运动调节的信号转导过程中有重要作用。

在关于CDPK的分子生物学研究方面,有人报道了CDPK的表达与逆境胁迫及其信号传递密切相关。物理胁迫信号(如机械切割)和一些化学信号(如生长素、放线菌酮、盐胁迫)等均有诱导或促进CDPK表达的作用。自玉米花粉中克隆的CDPK基因则具有在花粉中特异表达、而且在花粉萌发阶段表达最为旺盛的特点。究竟CDPK的调控主要是在转录和转译水平还是在转译后的蛋白活性调节水平,现在还无明确证据。

## (三)其他蛋白激酶

除CDPK类蛋白激酶外,在植物细胞中还发现了其他类型的钙依赖型蛋白。如与植物光敏色素密切相关的钙依赖型蛋白激酶、一些同时受钙离子和钙调素调节的蛋白激酶等。除钙依赖型蛋白激酶外,在植物中还存在一类与哺乳动物表皮生长因子(EGF)受体相似的蛋白激酶,即在前面已讨论过的受体样蛋白激酶(RLK),此处不再重复。

## (四)蛋白磷酸酶

在细胞信号转导过程中,蛋白激酶通过其对靶蛋白分子的磷酸化作用而实现对后者活性的调节,而蛋白磷酸酶则通过对靶蛋白分子的去磷酸化作用而实现对后者活性的调节,可以说两者具有同样重要的意义。在动物细胞中已发现的蛋白质磷酸酶被分为四类,分别被命名为1型、2型、3型及4型(Type 1、2、3、4),每一类又分别包括多种不同的蛋白质磷酸酶。现已在植物细胞中鉴定出几种不同的蛋白质磷酸酶,包括在豌豆、胡萝卜、甘蓝中鉴定出的Type 1蛋白质磷酸酶,在豌豆、胡萝卜、小麦中鉴定出的Type 2A和Type 2C蛋白质磷酸酶等。有研究表明,Type 1蛋白质磷酸酶的作用可能与植物细胞的有丝分裂过程的调控有关。在蚕豆保卫细胞中的Type 2B蛋白磷酸酶则与钙离子对质

膜上钾离子通道的调节有关。拟南芥 ABA 不敏感型突变体 *abi1* 中发生突变的基因 *ABAI1* 编码的蛋白可能是类似于动物细胞 PP2C 型的磷酸酶，而该基因的突变导致拟南芥植株对 ABA 不敏感的现象说明，蛋白质的去磷酸化机制有可能介导 ABA 在调节气孔运动过程中的信号传递。

尽管有关植物细胞蛋白质激酶和蛋白质磷酸酶的研究进展相对缓慢，但许多研究工作者都预期蛋白磷酸化或去磷酸化的过程在植物细胞信号转导过程中有其重要作用和意义。这可能是由于不同蛋白质的磷酸化或去磷酸化过程可以特异地分别实现对不同生理生化过程的调节，这显然对信号转导过程特异性的体现有重要意义。活细胞通过调控细胞内各种不同蛋白质的磷酸化或去磷酸化，很可能与细胞实现各种不同刺激信号的特异信号转导过程有关。目前这方面的研究工作的热点问题包括：鉴定、分离、克隆植物细胞的各种不同蛋白质激酶和蛋白质磷酸酶，研究各种蛋白质激酶和蛋白质磷酸酶的作用靶分子、生理调节作用及其分子机理。

总之，植物细胞中既存在类似于动物细胞的一些信号转导因子及机制，同时又存在植物细胞特有的信号转导因子及调节机制。对植物细胞的特殊信号转导机制的探讨不仅有利于丰富人们对真核生物细胞信号转导机制的认识和理解，也有助于对植物细胞自身生长发育调控机理的认识和理解。

### 七、细胞骨架

细胞骨架由微管、微丝、中间纤维等多种成分构成，而其中每种成分又是由一些蛋白分子组成的。细胞骨架在细胞生长、分化过程中的重要作用愈来愈引起人们的重视，特别是细胞骨架成分在细胞信号转导中的作用已成为近年来的重要研究领域。细胞骨架在细胞生长、分化（细胞分裂）、细胞运动、细胞极性的决定及极性生长、膜蛋白（如离子通道）功能的调控等方面的作用已陆续被证实，细胞骨架作用的分子机制也在逐步被阐明。细胞骨架成分与信号转导因子（如 $Ca^{2+}$、$IP_3$ 等）间的交互作用方面的研究进一步说明，细胞骨架是信号转导过程中的重要因子。有关细胞骨架的内容在第一章中已有详述。

## 第三节　植物细胞信号转导机制

图 18-10 简要概括了由上述因子参与的细胞信号转导的一般途径以及各种因子之间的相互作用关系，其中有些环节或步骤尚未在植物细胞中得到明确证实。植物细胞信号转导研究工作常用的研究模型包括：植物叶片气孔的开放与关闭运动过程、花粉萌发及花粉管的极性生长过程、根毛细胞感应环境及病原因子的过程、植物与病原相互作用的过程等。本节简要地以气孔运动调控等信号转导研究模型为例说明植物细胞信号转导的过程，其中有些信号传递步骤可能具有普遍意义。

### 一、气孔运动调节的细胞信号转导机制

#### （一）植物叶片气孔的运动机理及其调节

气孔的开放与关闭运动是通过构成气孔的保卫细胞的膨压变化来实现的。图 18-11 以双子叶植物为例简单概括了气孔开闭运动的渗透调节模式。在适合气孔开放的条件下（如光照、低二氧化碳浓度、较高的相对大气湿度等），保卫细胞质膜上的质子泵被激活而将胞内质子不断泵至胞外，跨膜质子电化学势梯度增加，结果使得质膜处于超极化状态（即膜电位变得更负）。钾离子在超极化跨膜电位的作用下通过内向钾离子通道流入细胞，与其相伴随的有氯离子的内向流动。于此同时，胞质内 pH 的升高促进了淀粉磷酸化酶的活性，使胞内可溶性糖浓度增加；较高的 pH 也促进 PEP 羧化酶的活

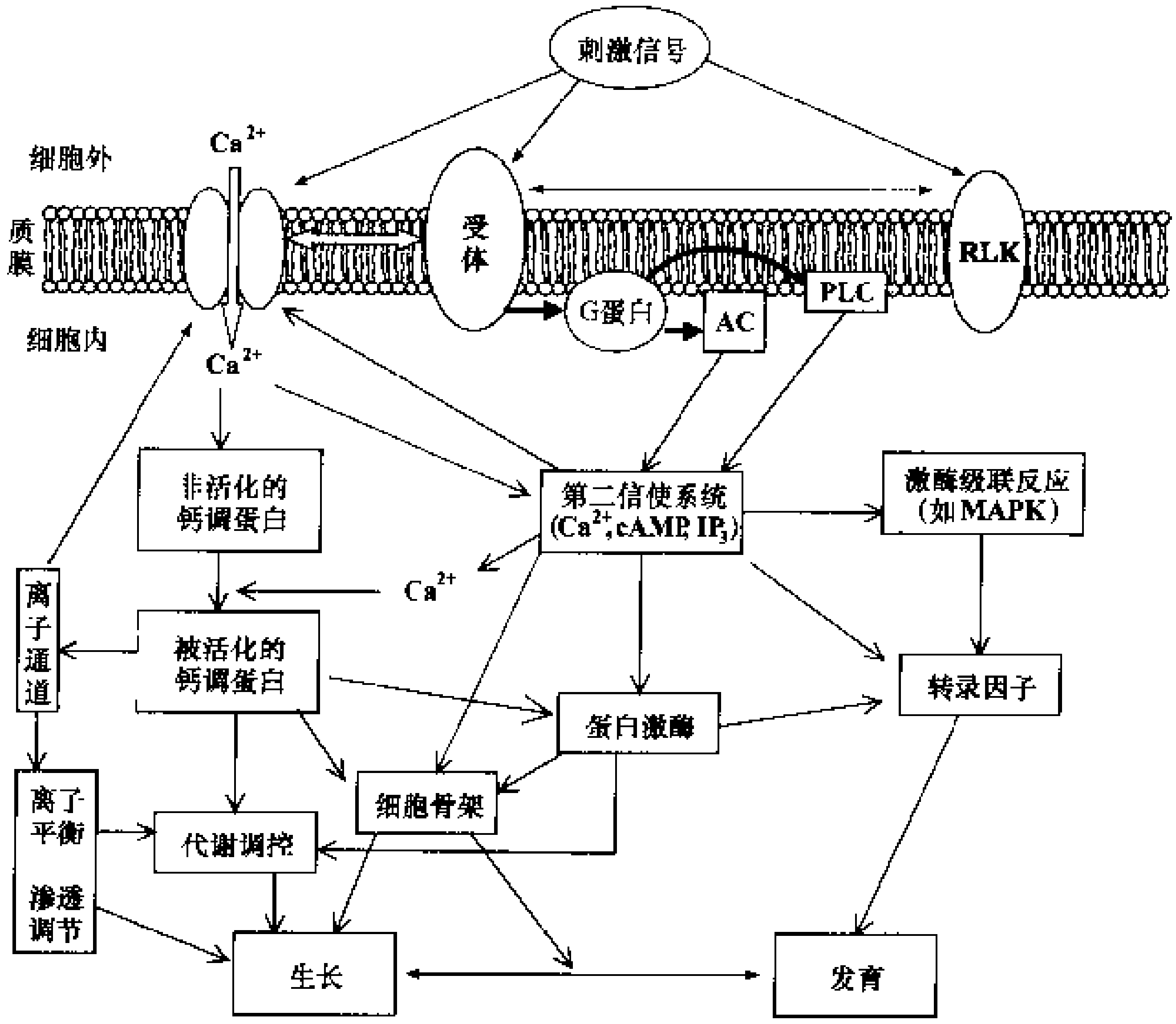



图 18-10　植物细胞信号转导的一般机制模式图

RLK:受体样激酶;AC:腺苷环化酶;PLC:磷酯酶 C;MAPK:分裂原激活蛋白激酶。

性,使胞内苹果酸浓度增加。所有这些溶质浓度的增加都使细胞水势下降,使保卫细胞吸水膨胀。由于保卫细胞的胞壁具有不均匀加厚的特点,即内侧壁(腹壁)较厚而外侧壁(背壁)较薄,保卫细胞在发生膨胀时向外凸出,导致气孔开放。反之,在适合气孔关闭的环境条件下(如黑暗、高二氧化碳浓度、较低的相对大气湿度等),保卫细胞质膜上的质子泵活性被抑制,结果使得胞内溶质浓度下降,最终导致气孔关闭。需要指出的是,研究业已证明,气孔的关闭并非气孔开放的简单逆过程,主要表现在两种过程的不同调节机制并非简单的逆转。

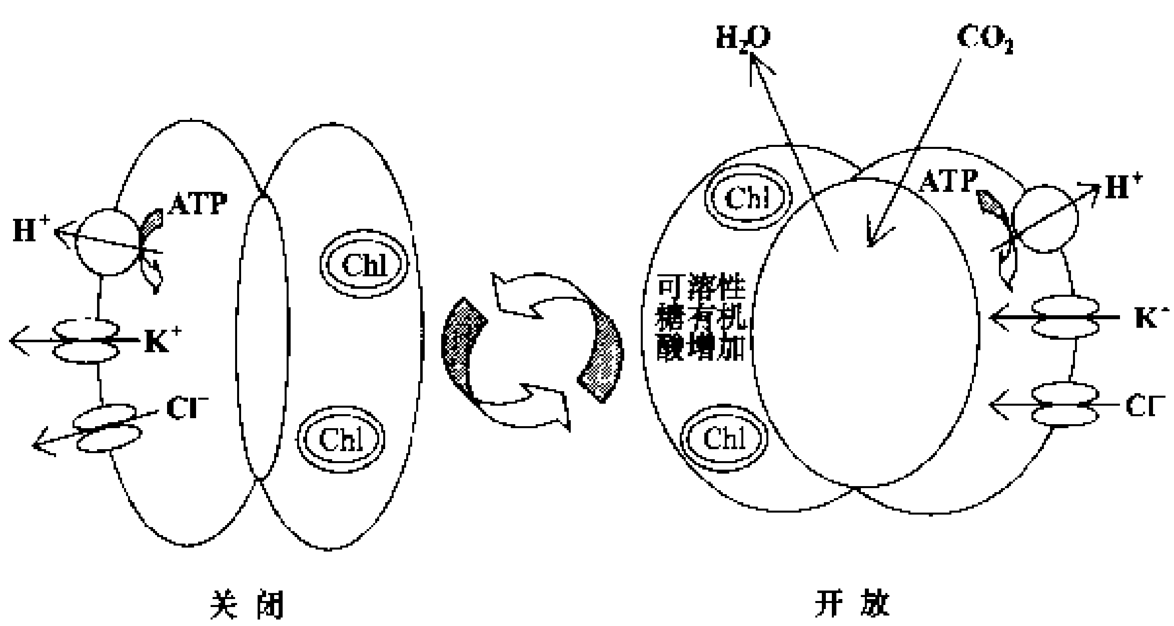



图 18-11　植物叶片气孔开放/关闭运动渗透调节模式图

在图 18-11 所示气孔开闭运动的渗透调节机制中,钾离子的出入细胞是影响胞内溶质浓度的重要因素,因此我们以跨膜钾离子流作为气孔运动的指标来讨论其信号转导机制。如当某一条件或因子

激活保卫细胞质膜上的内向钾离子通道时而引起钾离子内流时，可以认为这一条件或因子会促进气孔开放；反之，如质膜上的内向钾离子通道被抑制，而外向钾离子通道被激活时，气孔一般趋于关闭。当然，在实际研究工作中，可将对跨膜钾离子流的测定与对表皮组织上气孔开度等指标的测定相结合进行。

### （二）ABA 抑制气孔开放（或促进气孔关闭）的信号转导机制

植物内源激素 ABA 的典型生理作用之一就是抑制处于关闭状态的气孔开放或促进处于开放状态的气孔关闭。据已有的研究证据分析，ABA 可能主要是通过抑制保卫细胞质膜上的内向钾离子通道活性和同时促进外向钾离子通道活性而实现对气孔运动的调节。图 18-12 简要概括了 ABA 通过一系列细胞信号转导因子最后抑制质膜上内向钾离子通道的调节机制。

如前所述，迄今对 ABA 受体的研究还停留在对 ABA 结合蛋白的研究阶段，气孔保卫细胞膜表面或其他亚细胞结构上的 ABA 受体情况还不甚明了。但通过不同的方法用 ABA 处理表皮组织或保卫细胞原生质体对气孔开闭运动的调节进行研究，发现 ABA 在胞外或胞内都具有调节气孔运动的作用。由此认为，有可能在保卫细胞质膜的外表面和胞内的某些亚细胞结构上（如液泡膜）都可能存在 ABA 的作用位点或受体[图 18-12(1, 6)]。如果 ABA 作用于质膜表面的 ABA 受体，则被激活的 ABA 受体有可能进一步作用于与膜结合的 G 蛋白[图 18-12(2)]。虽然 G 蛋白对保卫细胞质膜上内向钾离子通道的调节作用已被证明，但还没有直接证据表明 G 蛋白参与了 ABA 的信号转导过程。G 蛋白的一种可能的下游作用机制是通过类似于动物细胞的 cAMP 信使的作用而实现的，即 G 蛋白调节胞内 cAMP 的合成而改变胞内胞内 cAMP 的水平。最近的研究观察到，在气孔保卫细胞中存在 ABA/$Ca^{2+}$ 与 cAMP 相互作用的现象，至于 G 蛋白是否参与调节气孔保卫细胞中的 cAMP 水平则仍需进一步的实验证明。G 蛋白的另一种下游作用机制则有可能类似于动物细胞，即通过 $IP_3$ 作为信使物质而进一步传导信号[图 18-12(3-4)]。$IP_3$ 作用于细胞内膜系统（如液泡、内质网等），使这类膜上的钙离子通道活化，导致胞质内游离钙离子浓度增高[图 18-12(4-5)]。而在液泡等内膜系统上也有可能存在 ABA 的受体，ABA 可能更直接地作用于内膜上的某些成分[图 18-12(6)]。ABA 的另一可能作用机制是直接地影响质膜上质子 ATP 酶的活性，结果是一方面直接影响了跨膜质子电化学势梯度，另一方面通过影响胞质 pH 而使胞内游离钙浓度发生变化[图 18-12(7-8)]。而 ABA 通过直接对质膜上钙离子通道的作用面影响胞内钙离子浓度则是又一种可能机制[图 18-12(9)]。胞内游离钙离子浓度的增高可能通过影响许多依赖钙的蛋白成分发挥作用，其中蛋白质磷酸化与去磷酸化系统很可能是钙离子的作用靶之一[图 18-12(10)]。而近几年对植物细胞所特有的钙依赖型蛋白激酶（CDPK）的研究表明，CDPK 很有可能是保卫细胞信号转导机制中的重要成员。蛋白激酶或磷酸酶通过对质膜上钾离子通道蛋白的磷酸化或去磷酸化作用，最终实现对钾离子通道活性的调节[图 18-12(11)]。此外，胞内钙离子浓度的变化也可能直接影响钾离子通道的活性[图 18-12(12)]，而胞外的 ABA 对钾离子通道活性直接发生影响的可能也还不能被排除[图 18-12(13)]。

## 二、植物与病原互作的信号转导机制

生活在自然环境中的各种植物时刻有可能感受病原微生物的侵染。虽然植物不像动物那样有一整套循环与免疫系统相互协调配合而抵御病原的侵染，但植物在长期的进化过程中也建立起一些植物特有的抵御病原的机制。一般来讲，当植物细胞感受（perception）到具有侵染能力的病原的信号之后，它能迅速将病原侵染信号传递至细胞内以及相邻细胞。随之，一系列抵御病原的反应（defense response）就被诱导发生。这些反应一般包括：① 富含羟脯氨酸的糖蛋白，纤维素，胼胝质，木质素等的合成及掺入细胞壁，使胞壁得到加固；② 植物次生代谢反应的加强以及低分子质量的抗病原菌的植保

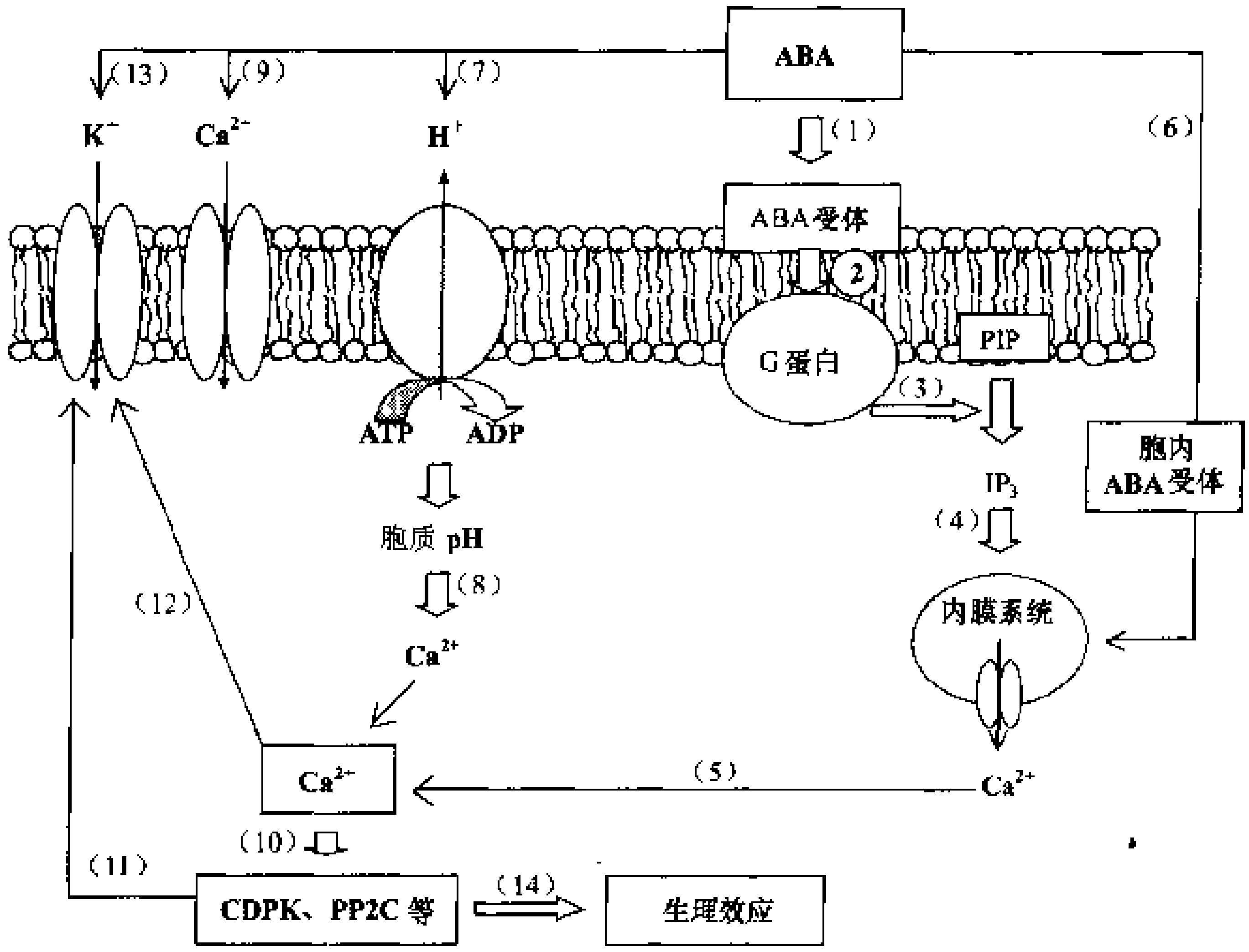



图 18-12　ABA 调节气孔保卫细胞生理活动的信号转导机制

素(phytoalexin)的合成;③蛋白酶抑制子(proteinase inhibitor)的合成;④爆发性氧化反应(oxidative burst)的发生;⑤对病原菌细胞壁有分解作用的一些酶的合成;⑥被侵染部位的细胞迅速死亡以限制病原的扩散;等等。植物对病原做出这些抵御性反应的强度决定植物的抗病能力,而这些反应的诱发则受一系列信号传递过程的控制。当病原菌开始侵染寄主植物时,病原菌往往首先释放一些对寄主植物细胞有破坏作用的酶或化合物,而这些酶或化合物又可能是引发寄主植物抵御性反应的诱导因子或称激发子(elicitor)。作为病原的真菌或细菌在感染寄主植物时释放的激发子一般有:寡聚糖、糖蛋白、多肽或蛋白质、亲脂性物质等。在被感染的寄主植物细胞表面或质膜上存在能特异性地识别激发子的受体,受体在感受信号之后,进一步将信号沿一定的途径传递,并最终引发病理反应。对于不同的病原/寄主系统,它们相互作用时的信号转导过程和途径可能有所不同,但有些机制(如蛋白质的磷酸化/去磷酸化机制)则可能具有普遍意义。已经知道,前面第二节讨论的参与细胞信号转导的各类(种)因子,如 G 蛋白、磷酸肌醇类物质、cAMP、钙离子等,也在植物/病原互作的过程中承担信号介导的作用。植物在受到病原的侵染时会迅速地做出"系统反应"(systemic response),即植物的某一部位在受到病原侵染后,植物能够迅速地将"信号"[如水杨酸(salicylic acid)]传递至其他部位或其他组织或器官,植物通过系统反应而使植物整体都处于抵御病原的状态。还有人认为,物理信号(如可传递电波)也有可能介导系统反应。

总之,植物与病原或植物与共生微生物(如豆科植物与根瘤菌)的相互作用是一非常复杂的信号传递过程。在过去的近十年间,这方面的研究取得了长足的发展,详细内容请读者参阅相关的专著或专门文献。

## 三、植物细胞的光信号转导机制

光照是影响植物生长发育的最重要的环境因子之一,其不仅以能量的方式直接影响植物赖以维持生计的光合作用过程,而同时也作为重要的信号因子而调节植物的生长发育。光作为信号所引起

的植物效应(或称植物对光的反应)可分为三类,分别为光形态建成(photomorphogenesis)、向光性生长(phototropism)和光周期现象(photoperiodism)。虽然光信号传递机制一直是植物生理学与植物分子生物学最为重要的研究领域之一,但只是在20世纪70年代以后才逐步取得一些较为重要的进展。特别是近十年来,由于一些与光信号传递有关的拟南芥突变体的相继出现及被应用于实际研究工作,使得这方面的研究工作得到了迅速发展。

本文第二节曾简单地讨论了植物细胞光信号受体,其中除了作为红光/远红光受体的光敏色素之外,其他光信号受体的研究还很不深入。而由光敏色素介导的信号转导机制也并不完全清楚,如光敏色素下游的作用靶分子是什么以及它们之间以何种机制相互作用等。有研究初步表明,光敏色素有可能通过调节蛋白质磷酸化、G蛋白活性和胞质内钙离子浓度等机制进一步发挥作用。对角齿藓(*Ceratodon purpureus*)光敏色素的研究表明,它是一光依赖型蛋白激酶,其活性受红光/远红光调节。它的N端为光受体部分,而C端具蛋白激酶活性,其作用机制类似于已在动物细胞中发现的受体蛋白激酶(Algarra et al. 1993)。红光照射可引起小麦原生质体膨胀的同时也引起胞内钙离子浓度的暂时上升,而人为地改变胞内钙离子浓度也可模拟红光处理的效果,这说明钙离子可能参与了由光敏色素介导的信号转导过程。利用细胞显微注射方法的研究结果证明,G蛋白以及钙离子和cGMP参与了由光敏色素介导的信号转导过程。

有关光信号转导的详细内容请参考本书第十五章。

## 小　结

细胞信号转导指的是偶联各种胞外刺激信号与其所引起的特定生理效应之间的一系列分子反应机制,具体包括细胞感受、传导及放大各种刺激信号的分子机制,以及经传导和放大后的次级信号调控细胞生理生化活动的分子机理等。本章主要讨论了参与植物细胞接受、感受、传递各种内外源刺激信号的细胞因子或组分,以及这些因子之间如何协同作用而完成细胞信息传递过程的分子机制。

参与细胞跨膜及胞内信号转导过程的主要因子包括受体、G蛋白、第二信使系统(三磷酸肌醇、环化单磷酸腺苷、钙离子等)、蛋白激酶/蛋白磷酸酶、细胞骨架蛋白组分等。其中受体和G蛋白是参与跨膜信号转导的主要因子,而三磷酸肌醇、环化单磷酸腺苷、钙离子等则属参与胞内信号转导的第二信使物质,钙调蛋白、蛋白激酶/蛋白磷酸酶、离子通道等膜功能蛋白、细胞骨架成分等胞质功能蛋白等则作为第二信使下游作用的靶分子而与刺激信号引起的特定生理效应密切相关。参与细胞信号转导的因子之间存在复杂的交互作用,因此信号转导机制具有复杂的网络特点。

高等植物细胞中既存在类似于动物细胞、甚至原核生物细胞的一些信号转导因子及机制,同时又存在植物细胞特有的信号转导因子及调节机制。对高等植物细胞的特殊信号转导机制的探讨不仅有利于人们对植物细胞自身生长发育调控机理的认识和理解,也有助于揭示所有真核生物细胞的信号转导机制。

**思考题**

(1) 何谓"细胞信号转导"?

(2) 参与细胞信号转导的主要因子有哪些?它们之间的相互关系为何?

(3) 何谓细胞信号转导过程中的"初始刺激信号"和"第二信使"?

(4) 为什么说信号及其转导途径的特异性对于细胞信号转导有特殊重要的意义?

(5) 简述G蛋白参与细胞信号转导的作用机制。

(6) 举两个例子说明植物细胞信号转导(有别于动物细胞信号转导)的特殊性。

# 第四部分　植物环境生理

## 第十九章　植物逆境生理

自然界的植物生活在多变的环境中，而且与动物相比，植物在所生活的环境中“植立不动”。因此，任何自然界的植物在其一生中几乎不可能避免不良环境变化的影响，有时甚至遭受极为严酷的环境胁迫。不良环境条件往往对植物的生长发育造成显著的不利影响，甚至导致植物死亡。另一方面，植物经过长期的进化及适应环境变化的过程也逐步形成了一定的抵御不良环境变化的机制。本章的主要内容是讨论植物适应干旱、盐害、低温等环境胁迫的生理及分子机制。

此外，环境胁迫（如干旱、水涝、盐害、低温、病虫害等）是影响和限制农作物生产的主要因素之一。在作物生产中，通过创造良好的农业生态环境、培育具有抵抗不良环境性状的优良品种等以提高作物的产量和品质，一直是科学家们努力探索的研究领域。本章从植物生理学的角度，对植物如何适应不良环境变化的机制和人为提高植物的抗逆性进行了讨论。

### 第一节　逆境的概念及植物对逆境的适应性

#### 一、逆境与胁迫的概念

自然界中的植物并非总是生活在适宜的条件下，经常会遭遇到冷、热、旱、涝、盐碱、大气污染等不良环境因素的影响，凡对植物生存或生长不利的环境因子统称为“逆境”（stress）。而对于植物而言，逆境也就是环境胁迫。因此，“stress”一词也被译为“胁迫”。相对于植物的环境胁迫可分为生物性胁迫（biotic-stress）（如病害、虫害、杂草等）和非生物性胁迫（abiotic-stress）（即物理、化学胁迫，如干旱、盐害、高温、低温、辐射等）。

胁迫（stress）一词在物理学上被称为胁强或应力，其物理意义是指作用于物体单位面积上的力的大小。作用于物体上的力所造成的物体的大小、形状的变化被称作“胁变”（strain）。相对于生物系统和物理系统，胁迫（或胁强）和胁变的含义是有所区别的（表 19-1）。

**表 19-1　胁迫与胁变的物理学和生物学定义比较**

| 名　词 | 物理学定义 | 生物学定义 |
|---|---|---|
| stress | 胁强：作用于物体上的力 | 胁迫：作用于生物体上的不适外界因子 |
| strain | 胁变：由胁强所产生的物体的大小、形状的变化 | 胁变：由胁迫产生的生物体物理、化学变化 |
| elastic strain | 弹性胁变：物体大小、形状的可逆变化 | 弹性胁变：生物体发生的可逆物理、化学变化 |
| plastic strain | 塑性胁变：物体大小、形状的不可逆变化 | 塑性胁变：生物体所发生的不可逆的物理、化学变化 |
| modulus of elasticity | 弹性模量：胁强与弹性胁变之比 | 弹性模量：胁迫强度与弹性胁变之比 |
| modulus of plasticity | 塑性模量：没有计算 | 塑性模量：单位时间内胁迫强度与塑性胁变之比 |

## 二、植物适应性的概念

植物的抗逆性是指植物对逆境的适应性反应。任何植物的抗逆性都不是突然形成的，而是通过逐步适应(adaptation)形成的。植物对不利于生存的环境逐步适应的过程叫做锻炼(acclimation)，例如越冬作物由于秋季温度逐日降低，经过渐变的低温锻炼，就可以忍受冬季的严寒。

植物的适应性(adaptability)是指植物自身对逆境的适应能力。植物对逆境的适应方式是多种多样的，图 19-1 概括了植物的各种适应性及其相互关系。

避逆性(stress escape)是指植物整个发育过程不与逆境相遇，或指植物在逆境胁迫到来之前，植物已完成其生育周期。例如沙漠中的某些植物只在雨季生长。

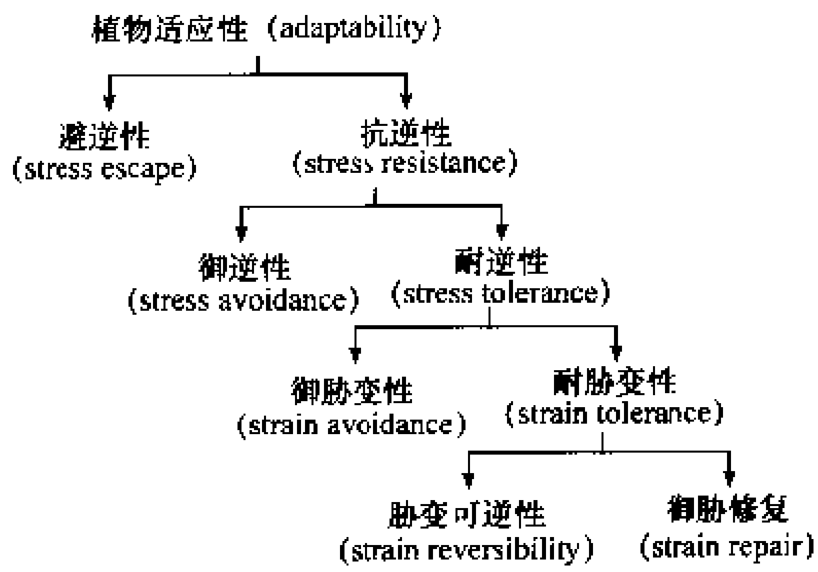



图 19-1 植物的各种适应性

抗逆性(stress resistance)是指植物具有对环境胁迫的抵抗和忍耐能力，简称抗性，包括御逆性和耐逆性两个方面。

御逆性(stress avoidance)是指植物具有一定的防御环境胁迫的能力，且在环境胁迫下各种生理过程仍保持正常状态，如根系发达、叶片小、蒸腾低及输导系统发达等都具有防御植物脱水的作用。

耐逆性(stress tolerance)是指植物通过自身的生理生化变化来适应环境的能力。耐逆性可分为御胁变性和耐胁变性。

御胁变性(strain avoidance)是指植物在逆境作用下能减低单位胁迫所引起的胁变，起着分散胁迫的作用，如蛋白质合成能力强、蛋白质分子间的键结合力强和保护性物质多等，使植物对逆境的敏感性减弱。耐胁变性又可分为胁变可逆性与胁变修复两种。

胁变可逆性(strain reversibility)是指逆境作用于植物体后植物产生一系列生理变化，当环境胁迫解除后，各种生理功能能够迅速恢复正常。

胁变修复(strain repair)是指植物在逆境下通过代谢过程迅速修复被破坏的结构和功能。

总之，植物适应性的强弱取决于外界施加的胁迫强度和植物对胁迫的反应强度。同样胁迫强度下植物的胁变取决于植物的遗传潜力，因此可以说植物的适应性是一个复杂的生命过程，是胁迫强度、胁迫时间与植物自身的遗传潜力综合作用的结果。

## 三、逆境胁迫对植物的影响

### (一) 逆境对植物生理代谢过程的影响

**1. 植物体内水分状况的变化**

大量的研究已经表明植物在冰冻、低温、高温、干旱、盐渍、土壤过湿和病害发生各种逆境下水分状况的变化是比较明显的。即植物吸水能力降低、蒸腾量减少。但由于蒸腾量大于吸水量，植物组织的含水量降低而发生萎蔫现象。这时植物体内的水势、渗透势、压力势和相对含水量均降低，气孔部分关闭。

**2. 质膜透性的变化**

原生质膜的透性对逆境的反应非常敏感。在不同环境条件下，如干旱、冰冻、低温、高温、盐渍、二

氧化硫污染和病害发生时都能检测到质膜透性增大。逆境下质膜透性的变化可能与质膜 ATP 酶和有机物质主动运输酶活力下降有关；也可能是由于逆境下细胞大量失水使细胞变形，原生质膜被撕裂而出现不连续态，恢复供水时膜双层结构不能完全恢复，因而胞内物质明显外渗；还可能是逆境条件下胞内可溶性物质随水外流的结果。

**3. 光合作用的变化**

在任何一种逆境下如干旱、高温、低温、土壤盐渍化、土壤过湿或积水、$SO_2$ 污染等都可使植物的光合作用强度呈现下降的趋势。逆境导致光合作用下降的原因很多，在高温胁迫下，植物光合作用的下降可能与酶的变性失活有关；也可能与脱水时气孔关闭，增加气体扩散阻力有关。研究表明干旱条件下，光合作用下降主要是由于气孔关闭、失水造成的光合作用有关酶活力降低和叶肉细胞细胞壁部位对 $CO_2$ 透性降低所造成的。

**4. 呼吸作用的变化**

植物在不同发育时期，不同的器官以及在不同的环境条件下呼吸强度都会发生变化。尽管影响呼吸强度的内外因子很多，但呼吸速率还是与逆境胁迫的强度及时间的长短密切相关。依据现有的资料可将逆境下植物的呼吸作用变化分为呼吸强度降低、呼吸强度先升高后降低和呼吸强度明显升高三种类型。冰冻、高温、盐渍和淹水胁迫时植物的呼吸强度都逐渐降低；零上低温和干旱时，植物的呼吸强度先升高而后降低；植物发生病害时，组织的呼吸强度极显著增强，这种呼吸作用的增强与菌丝体呼吸无关，而是植物细胞原生质内有关呼吸酶类活性增强的结果，这可能是因植物适应性反应中需要较高的能量。

**5. 植物体内物质代谢的变化**

在低温、高温、干旱等胁迫下，磷酸化酶和蛋白酶的水解活性提高，促进淀粉水解和蛋白质降解，使体内葡萄糖、蔗糖和可溶性氮增加。同时，在逆境下某些蛋白质合成能力也增强。有人发现 0℃低温下植物组织的可溶性蛋白质增加，其中包括糖蛋白的增加，这可能是因为低温下糖酵解途径转变为磷酸戊糖途径，因而提供了较多的 NADPH 和 ATP，有利于核酸、蛋白质的合成。已经证明，抑制植物的蛋白质合成会降低植物的抗冻性。目前关于逆境下植物特异蛋白的研究已进入分子水平，对于揭示植物的抗逆机制及提高植物的抗逆性会起到重要作用。

## （二）逆境对植物细胞超微结构的影响

**1. 逆境下膜结构和膜组分的变化**

（1）膜结构的变化　植物抗逆性与生物膜结构的关系早就引起人们的注意，1912 年马克西莫夫就提出原生质膜是结冰伤害的主要部位。Lyons 根据生物膜理论和植物抗冷性方面的研究报告，首先提出了植物冷害的“膜伤害”假说。他指出，生物膜由于其结构特点会随温度的降低而产生物相变化。植物正常生理状态时，需要液晶态的膜状态。当温度降到一定程度时，某些植物的膜脂由液晶态变为凝胶态，膜结合酶活力降低和膜透性增大。这些变化又引起胞内离子渗漏，失去平衡，膜结合酶和游离酶活力失调，进而使细胞代谢失调。膜系统在不同脱水情况下产生不同形式的胁变，缓慢脱水时细胞塌陷使细胞表面延伸，严重脱水时，双层膜脂转变成六角形结构。上述两种脱水条件都会使膜蛋白从膜系统中游离下来，导致蛋白质变性聚合和离子泵破坏。

（2）膜脂组分的变化　高等植物膜脂中含有磷脂酰胆碱（PC），磷脂酰乙醇胺（PE），磷脂酰甘油（PG），磷酸肌醇（PI），磷脂酸（PA）等磷脂和单半乳糖二甘油酰（MGDG），双半乳糖二甘油酰（DGDG），硫脂（SL）等糖脂。以植物细胞的膜脂成分与低温胁迫的关系为例，Kuiper 在苜蓿上进行了膜脂组分与抗冷性关系的研究，结果表明抗冷性强的品种叶片中 MGDG、DGDG、PC 和 PE 的含量在（15～30℃范围内）的任何温度下均比不抗冷品种的含量高。在低温胁迫条件下，这两个品种叶片膜

脂脂肪酸配比也有明显差别，抗冷品种的 DGDG 中饱和脂肪酸含量少，不饱和脂肪酸含量多，尤其亚麻酸含量较高；而在不抗冷品种中，亚麻酸等不饱和脂肪酸的含量较低。

现在一般认为，膜脂种类以及膜脂中饱和脂肪酸与不饱和脂肪酸的比例都与植物抗冷性、抗冻性、抗旱性、抗盐性等密切相关。根据脂肪酸的物理化学性质分析，不同碳链长度及不同饱和键数的脂肪酸的固化温度不同。从碳链长度来说，碳链越长固化温度越高；相同碳链长度时，不饱和键数越多，固化温度越低。由于正常活细胞的膜结构需要膜脂有一定的流动性，因此，在植物细胞膜脂中含有较多碳链短的、不饱和键多的脂肪酸时，对于提高植物的抗逆性有重要意义。如适当的逆境锻炼可以使植物细胞膜组分中脂肪酸的不饱和度增加，从而使抗逆性增强。

*(3)膜蛋白的变化*　逆境胁迫不仅影响膜脂组分的变化，同时也影响到膜蛋白组分及活性的变化，进而影响植物的抗逆性。以低温胁迫与膜蛋白组分或活性变化之间的关系为例，有人曾提出以膜蛋白为核心的膜的冷伤害假说。例如甘薯块茎随着在低温(0℃)下贮藏天数的增加，线粒体膜上的膜蛋白对磷脂结合力降低，使 PC 和 LPC(脱酰磷脂酰胆碱)从膜上游离下来，进而导致线粒体膜破坏、组织坏死。最近有人提出，植物的抗逆性不仅与膜上的原有蛋白有关，而且与新产生的膜蛋白有关，即逆境胁迫可能会造成新的膜蛋白合成或是抑制原有蛋白的合成。

*(4)膜脂过氧化作用*　膜脂过氧化作用是自由基(如超氧阴离子自由基 $O_2^{-\cdot}$，羟自由基·OH)对类脂中的不饱和脂肪酸的氧化作用过程，结果产生对细胞有毒性的脂质过氧化物。膜脂过氧化过程中的中间产物——自由基能够引发蛋白质分子脱去 $H^+$ 而生成蛋白质自由基(P·)，蛋白质自由基与另一蛋白质分子发生加成反应，生成二聚蛋白质自由基(PP·)，依次对蛋白质分子不断地加成而生成蛋白质分子聚合物，这是膜脂过氧化造成细胞膜损伤的一方面。另一方面膜脂过氧化的产物丙二醛与蛋白质结合使蛋白质分子内和分子间发生交联，这样细胞膜上的蛋白质和酶由于发生聚合和交联，使其空间构型发生改变，从而使其功能或活性也发生改变。最终使膜的结构与功能发生变化，导致细胞损伤甚至细胞死亡。

**2. 逆境下植物细胞器的变化**

逆境下植物细胞的液泡膜、叶绿体、线粒体、内质网、高尔基体、核糖体、细胞核等细胞器都发生了不同的变化。在一定的胁迫范围内，当解除环境胁迫时，这些变化是可逆的。但是当原生质膜或液胞膜等膜系统损伤严重时，植物便丧失了对逆境的适应力。

## 四、植物响应逆境的生理机制

### (一) 生长发育调节

植物的生长发育及其调控是环境和植物的遗传系统相互作用的结果。例如，在干旱胁迫下，植物往往通过降低叶片的生长速率、或使老叶脱落等途径来减少总面积，从而有效地降低蒸腾失水。逆境胁迫还影响根长、根的数量和根系分布，改变根冠比例使根冠比值增大以改善植株的水分平衡及营养利用。逆境胁迫对发育的影响也是明显的，通常可促进提早开花和结籽，通过加快发育进程来尽快使植物度过难关，以保证繁衍后代。

### (二) 代谢调节

在逆境下，植物可以通过改变其代谢途径以提高其抗逆性。

逆境胁迫能显著影响体内的碳代谢途径，使植物的 $C_3$ 光合作用途径向 $C_4$ 或 CAM 光合作用途径转变，也有 $C_4$ 光合作用途径向 CAM 光合作用途径转变的例子。在盐生的松叶菊属植物中发现，盐胁迫或 NaCl 处理可诱导 PEP 羧化酶的产生，这是碳同化由 $C_3$ 途径转为 CAM 途径的重要生理生化标

志，也是盐胁迫引起气孔关闭后植物得以维持碳同化继续运行的适应性表现。利用 0.5 mol/L 的 NaCl 对冰叶松叶菊进行胁迫处理 48～72 小时，可观察到 CAM 途径酶类活性的增加；处理 1～2 周后 PEP 羧化酶活性增加 40 倍，NADP 苹果酸脱氢酶活性增加 18 倍，其他酶活性也增加数十倍。在 NaCl 处理或干旱胁迫下，气孔在光照下发生关闭是引起有机酸脱羧、由 $C_3$ 向 CAM 转变的触发信号。在诱导过程中，PEP 羧化酶、NADP-苹果酸脱羧酶、NAD-苹果酸酶、PEP 羧激酶等的活性明显增加，其中 NADP(或 NAD)苹果酸酶活性增加 4～10 倍。Saiton 等指出，经 0.4 mol/L 的 NaCl 胁迫 2 天后，冰叶日中花叶片的 NADP-苹果酸酶活性明显增加，8 天时达原来的 12 倍，并维持恒定水平。除 PEP 羧化酶和 NADP-苹果酸酶外，CAM 途径中催化 PEP 再生的磷酸丙酮酸双激酶、Fd-$NADP^+$ 还原酶、磷酸甘油酸脱氢酶等在盐胁迫后都发生基因表达的变化。

## （三）膜保护物质与自由基平衡

早在 20 世纪 70 年代，人们就发现植物细胞通过多种途径产生 $O_2^{\cdot -}$、$\cdot OH$，$H_2O_2$ 等自由基，同时植物体内也存在着清除这些自由基的多种途径和还原型物质，如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POC)、谷胱甘肽还原酶(GR)以及维生素 E、维生素 C、类胡萝卜素、还原型谷胱甘肽等。在植物遭受逆境胁迫时，自由基积累，导致膜脂过氧化水平增高，丙二醛(MDA)含量增加，膜脂成分改变，不饱和指数下降，膜的相对透性增加，膜结构和功能改变，从而引起一系列生理代谢变化。几乎所有的胁迫都可诱导 SOD 活性增加，SOD 活性的增加可有效地清除自由基，使膜的稳定性增加。另外，钙在稳定细胞膜和增强细胞对胁迫环境的抵抗力等方面都有很大的作用，这可能正是钙有助于提高植物抗逆性的原因之一。

## （四）渗透调节

在一定的胁迫范围内，某些植物可通过自身细胞的渗透调节作用表现出抵抗外界渗透胁迫的能力。植物可以通过调节细胞内的渗透势来维持细胞压力势的作用，被称为渗透调节(osmoregulation 或 osmotic adjustment 或 osmotic regulation)。渗透胁迫是指环境与生物之间由于渗透势的不平衡而形成对生物的胁迫，土壤干旱和盐渍在一定意义上都同属于渗透胁迫。当环境渗透势低于植物细胞渗透势时会导致细胞失水，严重的可造成细胞膨压的完全丧失，直至死亡。在一定的胁迫范围内，某些植物能通过自身细胞的渗透调节抵抗外界干旱或盐害造成的渗透胁迫。渗透调节对蒸腾作用、呼吸作用、细胞压力势、酶活性和膜透性等都有十分重要的调节作用。通过渗透调节能维持部分气孔开放和一定的光合作用强度，从而避免或减小光合器官受到的光抑制；渗透调节可保持细胞继续生长。但是渗透调节的作用也有一定的局限性，主要表现在植物种或品种之间渗透调节能力的差别、渗透调节作用的暂时性、以及渗透调节幅度的有限性。

参与渗透调节的可溶性物质称为渗透调节物质。渗透调节物质分为两大类：一类是外界环境进入细胞内的无机离子，如植物中的钾离子和氯离子；另一类是细胞内的有机溶质，主要是多元醇和偶极含氮化合物，如蔗糖、α-葡萄糖甘油、甘露糖醇、α-半乳糖甘油、山甜糖醇、赤藓醇、γ-氨基丁酸、谷氨酸、脯氨酸、苏氨酸、甘氨酸、丙氨酸、甜菜碱等。以上两类渗透调节物质在植物中都起着重要的渗透调节作用，而且是相互补充相互联系的。有机的渗透调节物质必须具备如下一些特征：分子质量小；十分易溶于水；在生理 pH 范围内不携带净电荷；不易透过细胞膜；引起酶结构变化作用最小；它们的生成又必须是迅速的。当然，在细胞内某种溶质浓度增加，除了增加其绝对量外，还可通过分布上的区域化，来提高细胞内某一部分的浓度，从而达到调节细胞局部的渗透势的效果。甜菜碱和脯氨酸都是理想的有机渗透调节物质，都分布在细胞质内，所以也称为细胞质渗透调节物质。

### （五）气孔调节

植物可通过增加水分的吸收或减少水分的散失来提高抗干旱能力。众所周知，植物主要通过蒸腾作用散失水分，蒸腾可区分为气孔蒸腾和角质蒸腾。在通常情况下，前者可占总蒸腾量的80%～90%以上，因此减少气孔蒸腾是控制植物失水，提高抗旱能力的关键。气孔调节（stomatal regulation）是指陆生植物在适应干旱环境过程中逐步形成的气孔开闭运动调节机制，植物通过调节气孔的开闭而使其适应干旱等逆境。因为气孔调节对外界环境因子的变化非常敏感，调节的幅度也较大，可由持续开放到持续关闭，而且不同植物的气孔运动形式多种多样，所以这种机制对植物控制失水极为有效，在植物的适应性中占有重要位置。

对于作物来说，气孔的调节作用应满足两个相互矛盾的要求：在获得最大限度的$CO_2$同化作用的同时，阻止植株水分状况降低到使组织受害的水平。在植物受到干旱胁迫时，可以通过气孔调节来改变水分-光合关系，这是植物适应干旱的重要机制，当叶水势下降到阈值以下，气孔就关闭，从而蒸腾和光合都降低。这种阈值行为使植物体不致轻易地受到伤害，在植物中非常普遍。对于许多生长在田间的草本植物来说，在有利的环境和高光照下，完全展开的成熟叶的气孔关闭阈值范围较小，在已经有受水分胁迫历程并且产生渗透调节的情况下，当空气湿度低而蒸发势高时，虽然叶组织的水分状况高于气孔关闭阈值，在许多情况下气孔仍会部分关闭。水分胁迫引起气孔开度变小或关闭，气孔导度降低，是基于保卫细胞和相邻细胞之间膨压的平衡。

总之，气孔对逆境胁迫尤其是水分胁迫的反应是植物生存的最基本条件之一，气孔保卫细胞可作为防御水分胁迫的第一道防线，它可以通过调节气孔的孔径来防止不必要的水分蒸腾丢失，同时还保持着较高的光合效率。因此，研究气孔运动机理及其调控机制具有重要的理论及实践意义。

## 五、逆境蛋白与抗逆相关基因

### （一）逆境蛋白

**1. 渗调蛋白**

在盐胁迫情况下，某些植物的悬浮培养细胞会由于盐诱导而产生一种新的26 kDa蛋白。由于它的合成总伴随渗透调节的开始，因此被命名为渗调蛋白（osmotin）。应指出的是，并非所有植物的培养细胞在盐适应条件下都有新蛋白质出现，或出现的蛋白质中都有26 kDa蛋白。渗调蛋白的积累是植物生长受抑、适应逆境所产生的一种原初免疫反应，可能是一种耐脱水蛋白，并具有抗真菌活性。渗调蛋白是一种阳离子蛋白，在盐适应细胞中可稳定地产生，有可溶性或颗粒状两种形式存在，总量可达细胞总蛋白量的12%。渗调蛋白的合成调节发生在转录水平，ABA可诱导其合成或增加渗调蛋白mRNA的稳定性，盐以某种方式调节渗调蛋白信使翻译的稳定性。渗调蛋白还具有促进非盐适应细胞对盐的适应能力。

**2. 热激蛋白**

热激蛋白（heat shock protein，HSP）是一类在有机体受到高温逆境刺激后大量表达的蛋白，是植物对高温胁迫短期适应的必需组成成分，对减轻高温胁迫引起的伤害有很大的作用。有机体在受到热激伤害后，体内变性蛋白急剧增加，热激蛋白可以与变性蛋白结合，维持它们的可溶状态，在有$Mg^{2+}$和ATP的存在下使解折叠的蛋白质重新折叠成有活性的构象。植物线粒体内的热激蛋白Cph60在热激条件下与二氢叶酸脱氢酶、半乳糖脱氢酶和异丙醇苹果酸脱氢酶等酶结合形成复合体，使这些酶的热失活温度提高8～15℃。最近发现多种热激蛋白家族成员都能赋予有机体对高温的耐受能力，它们具有典型的分子伴侣的生理功能。分子伴侣（chaperone）是一类辅助蛋白分子，主要参与

生物体内新生肽的运输、折叠、组装、定位以及变性蛋白的复性和降解。通过控制与底物的结合与释放来协助目标蛋白的折叠与组装、向亚细胞器的运输或结合、稳定目标蛋白质的不稳定构型，但其本身不参与到目标蛋白的最终结构中。

**3. 胚胎发生晚期丰富蛋白**

在种子成熟脱水期开始合成的一系列蛋白质称为胚胎发生晚期丰富蛋白（late embryogenesis abundant protein，LEA），简称 LEA 蛋白。它们多数是高度亲水、在沸水中仍保持稳定的可溶性蛋白，缺少半胱氨酸和色氨酸。干旱、盐及低温胁迫均可诱导这些蛋白在营养组织中的表达，只是诱导途径不同。按照氨基酸顺序，LEA 蛋白至少可分为 5 组。其中组 1 LEA 蛋白的荷电氨基酸和甘氨酸的比例较高，亲水性强。组 2 LEA 蛋白 C 端含有 1 个保守的 15 个氨基酸的结构域，可能起分子伴侣或保护蛋白质结构的功能。组 3 LEA 蛋白具有 11 个氨基酸的重复顺序，形成亲水的 α 螺旋，多达 13 次，可能起到避免离子浓度过高所导致的毒害作用。组 4 LEA 蛋白可替代水保护膜结构，N 端形成保守的 α 螺旋，C 端通常不具有保守性，但随机盘绕的结构是保守的。组 5 LEA 蛋白具有与组 3 蛋白类似的 11 个氨基酸重复序列和化学性质，但不像组 3 蛋白那样每个氨基酸残基的排列位置具有高度的专一性，其功能与组 3 蛋白类似。

**4. 水分胁迫蛋白**

早在 20 世纪 30 年代人们就观察到水分胁迫可以影响蛋白质的代谢。近几年，对于旱诱导植物产生的特异蛋白，即水分胁迫蛋白（water stress protein）的研究不断增多。通常把水分胁迫蛋白分为两大类，一类是由 ABA 诱导产生的，另一类则仅由干旱诱导。但有些水分胁迫蛋白既能被 ABA 诱导，也可由干旱诱导产生。研究表明，水分胁迫引起植物蛋白质合成上的变化与发育的种子蛋白质合成的变化有一些相似之处。近年来水分胁迫蛋白的研究虽然取得了一些进展，但到目前为止，多数蛋白质的功能仍不清楚。

**5. 同工蛋白**

逆境能诱导植物产生一些同工蛋白（protein isoform）或同工酶。它们与“原来”的酶蛋白具有相同的功能、相似的结构和同源的 mRNA 编码区域，因此很难将它们严格区分开来。大麦的蛋白合成延长因子 EF-1a 是一个高度保守的蛋白，经低温诱导后，用 *BLT63* 基因编码的 mRNA3′末端翻译序列作探针，在 Northen 印迹法中能找到一系列由 *BLT63* 基因编码蛋白的同工蛋白，也就是说同工酶谱随温度发生变化。在离体蛋白质热锻炼过程中，蛋白质经过裂解和再合成可增加热稳定性，其间氨基酸顺序未变，疏水基团和亲水基团的亲和力变了，结果导致同工酶谱发生变化。这种变化可造成温度逆境诱导产生新蛋白的假象。所以说，许多早期注意到的同工酶蛋白电泳图谱的变化，在分子生物学水平上证明是直接受到低温诱导的，而不是低温锻炼过程中的蛋白质结构变化的生化现象。

**6. 类脂转移蛋白**

膜类脂的组成与植物抗逆性的关系密切，而高等植物的类脂转移蛋白（lipid transfer proteins，LTP），特别是大麦 *BLT4* 基因家族编码的膜类脂转移蛋白可能与膜脂饱和度的温度适应有关。同样是大麦，不同组织有不同的类脂转移蛋白，它对低温、干旱、病害和 ABA 有不同的响应。另外在根系中没有发现类脂转移蛋白，它们在线粒体与脂质体间转移类脂的功能也只在体外被证实，这类蛋白如何改变膜脂饱和度尚无进一步的研究报道。

**7. 激酶调节蛋白**

激酶调节蛋白（kinase-regulated protein）是参与逆境信号转导的蛋白，它能调节多种功能蛋白激酶的活性。例如，色氨酸、酪氨酸羟化酶依赖性激酶蛋白（14-3-3 蛋白）是一种动物中的激酶调节蛋白。在拟南芥中发现的只受低温诱导的 RC114A 和 RC114B 具有与 14-3-3 蛋白相似的结构特点，因而被估计也是激酶调节蛋白。RC114A 和 RC114B 的 N 端区都有亲水和疏水兼有的两亲性 α 螺旋，

具有蛋白激酶A和C的识别位点。RCI14A和RCI14B在经低温诱导后可能通过调节激酶的活性参与低温信号转导。

**8. 病程相关蛋白**

病害对植物是一种生物逆境(biotic stress)。当植物被病原菌感染或一些特定化合物处理后,会产生一种或多种蛋白质。这类蛋白质首先是在烟草花叶病毒感染的烟草植株中检测到的,目前已在烟草、豇豆、黄瓜、番茄、马铃薯、玉米、大麦和柑桔等20余种植物中发现。这些蛋白质没有病原特异性,而是由寄主反应类型决定的,说明是寄主起源的。因为这些蛋白质都与病原菌的感染有关,故称之为病程相关蛋白(pathogenesis-related protein,PR)。(参见本章第六节。)

**9. 重金属结合蛋白**

虽然一些重金属元素(如铜、锌等)是植物正常生长发育的必需营养元素,但当植物生长在含有过高浓度重金属的土壤中时,这些重金属元素会对植物产生强烈的毒害作用。有些植物在遭受重金属胁迫时,体内能迅速合成一类束缚重金属离子的多肽,这类多肽被称为植物重金属结合蛋白(heavy metal binding protein)。根据植物重金属结合蛋白的合成和性质的差异,可将其分为类金属硫蛋白(metallothioneins-like,简称类MT蛋白)和植物螯合肽(phytochelatin,PC)。迄今已从番茄、水稻、玉米、烟草、甘蔗、菠菜等多种植物中分离得到了镉和铜结合蛋白。这些蛋白分子质量一般很低,富含半胱氨酸(Cys),几乎无芳香族氨基酸,通过Cys上的—SH基与重金属离子结合形成金属硫醇盐配位。1981年Murashgi在$Cd^{2+}$处理的裂殖酵母中发现两种分子质量分别为1.8kDa和4kDa的镉结合肽,以后又在经$Cd^{2+}$处理的蛇根木悬浮培养细胞中分离得到了相同的多肽,将其称为植物螯合肽。许多重金属离子,如$Cd^{2+}$、$Pb^{2+}$、$Zn^{2+}$、$Ag^{+}$、$Ni^{2+}$、$Hg^{2+}$、$Cu^{2+}$、$Au^{+}$等都可诱导植物螯合肽的合成。植物重金属结合蛋白,无论是类MT还是PC,都含有丰富的半胱氨酸残基,能通过Cys上的—SH与金属离子结合,因此推测它们可能起着解除重金属离子毒害以及调节体内金属离子平衡的作用。有人推测重金属结合蛋白可通过结合与释放某些植物必需营养元素的离子如$Cu^{2+}$、$Zn^{2+}$等,调节细胞内的离子平衡。

**10. 冷驯化诱导蛋白**

早在1970年,Weiser就提出植物冷驯化导致某些特定基因的激活。后来研究发现,菠菜在5℃低温下诱导产生了一类新的mRNA。许多研究已清楚表明,植物经低温诱导能合成一组新蛋白,即冷驯化诱导蛋白(cold-acclimation-induced protein)。脱水和ABA处理也能使植物抗冻能力提高,这说明脱水、ABA和冷驯化之间有一定的关系。现在已经清楚,脱水处理引起ABA的积累,冷驯化也有同样的作用。ABA处理在常温下可诱导植物冷驯化蛋白的合成。

**11. 厌氧蛋白**

厌氧处理可引起植物基因表达的变化,使原来的蛋白(需氧蛋白)合成受阻,但合成了一组新的蛋白质,即厌氧蛋白(anaerobic stress protein, ANP)。目前已经在玉米、水稻、高粱、大麦和大豆等多种植物中发现了ANP的存在。玉米幼苗在厌氧处理后的前5小时,一组分子质量约为33kDa的多肽(称过渡蛋白,TP)迅速合成,在厌氧处理1.5小时后大约20种ANP诱导合成,其合成量占全部掺入标记氨基酸的70%以上。厌氧处理72小时后,ANP合成降低。现在已经确定有些ANP是催化糖酵解和乙醇发酵的酶类,其中包括醇脱氢酶(ADH)、丙酮酸脱羧酶、葡萄糖-6-磷酸异构酶和果糖-1,6-二磷醛缩酶I和蔗糖合成酶。在已确定的ANP中,ADH是研究最多的一种。由于在高等植物细胞中,乙醇发酵是厌氧条件下产生ATP的主要代谢途径,因此,它们在缺氧时含量和活性的增加,对于改善细胞的能量状态,提高植物对抗缺氧环境是有利的。

**12. 活性氧胁迫蛋白和紫外线诱导蛋白**

有些环境因子,如缺氧、高氧、空气二氧化硫污染、除草剂(如百草枯)等能诱发植物体产生过量的

超氧自由基($O_2^{\cdot-}$)，使植物受到伤害，甚至死亡，但在非致死条件下，这些环境因素能诱导植物体内超氧化物歧化酶(SOD)同工酶的出现和活性增强。SOD活性增加能有效地清除过量的$O_2^{\cdot-}$，维持植物正常的生理功能，提高植物对上述逆境的抵抗能力。植物在受到强烈阳光照射时，阳光中过多的紫外线会对植物产生伤害作用。做为一种防御机制，植物通过合成类黄酮色素吸收紫外线，从而减轻对植物自身的伤害作用。用紫外线处理芹菜悬浮培养细胞时，会引起苯丙氨酸解氨酶(PAL)、4-香豆酸、CoA连结酶、查耳酮合成酶(CHS)和UDP-芹菜糖合成酶的协同诱导，而这些酶类正是类黄酮色素生物合成所必需的。应用cDNA探针的研究发现，在紫外线照射时，编码这些酶的mRNA水平增加，说明紫外线诱导了这些基因的转录和蛋白质的重新合成。

总之，逆境胁迫可以引起植物基因表达的变化，表现为某些正常蛋白质合成受阻、逆境蛋白被诱导合成等。现在一般认为，植物通过逆境蛋白的合成，使自身在代谢和结构上发生调整，从而增强抵御外界不良环境的能力。但是，到目前为止，在众多的逆境蛋白中，除少量被确定为植物适应过程中所必需的酶外，大多数逆境蛋白的功能还不清楚。比较不同逆境下植物的逆境蛋白，可以发现不同逆境条件有时能诱导产生某些相同的逆境蛋白，如缺氧、重金属、盐和水分胁迫、ABA处理等都能诱导热激蛋白的合成；病程相关蛋白也可由某些化学物质如水杨酸、乙烯等诱导合成，暗示植物适应逆境条件可能存在某些共同的机制。随着研究的不断深入和对越来越多的与逆境有关的蛋白质和基因功能的阐明，利用遗传工程技术培育抗性作物新品种将成为可能。

## (二) 抗逆相关基因

### 1. 低温诱导基因

低温胁迫能诱导植物体内许多基因的表达，Hughes和Dunn将受低温逆境诱导的基因进行了归纳(表19-2)。

**表19-2 低温诱导基因**

| 品种 | 基因 | 同族基因 | 其他品种类似基因 | 编码蛋白的种类 | 其他逆境 |
|---|---|---|---|---|---|
| 双子叶植物 | | | | | |
| 拟南芥 | *cor6.6* (*kin1*) | *kin2* | *Bn28* | AFP | 干旱，ABA |
| | *cor78* | *lti78*, *lti65* *rd29A*, *rd29B* | | NK | 干旱 ABA，盐 |
| | *cor15A* | *cor15B* | *Bn115* | NK | 干旱，ABA |
| | *cor47* | *lti45* | — | D-11LEA | 干旱，ABA |
| | *lti30* | — | *cap85*, *cor39* | D-11LEA | 干旱，ABA |
| | *lti140* | — | | NK | 干旱，ABA |
| | *rab18* | — | — | D-11LEA | 干旱，ABA |
| | *Ccr1* | *Ccr2* | *blt801* | RNABP | 干旱 |
| | *RCI1* | *RCI2* | — | 14-3-3 | — |
| | *Adh* | — | — | ADH | 干旱，嫌氧 |
| 油料油菜 | *Bn115* | *Bn19*, *Bn26* | *cor15A* | NK | — |
| | *Bn28* | — | *cor6.6* | AFP | NK |
| | *BnC24A* | *BnC24B* | *bbc1* | NK | — |

| 品种 | 基因 | 同族基因 | 其他品种类似基因 | 编码蛋白的种类 | 其他逆境 |
|---|---|---|---|---|---|
| 苜蓿 | *cas15* | — | — | NK | — |
| | *cas17* | *cas18* | — | D-11LEA | — |
| | *MsaciA* | *SM2075* | — | NK | 干旱,ABA |
| | *masCIC* | — | — | 高脯氨酸 | — |
| 菠菜 | *cap85* | — | *lti30*,*cor39* | D-11LEA | 干旱 |
| | *ER-HSC70* | — | — | HSP | — |
| 高粱 | A13 | | | osmotin | 干旱,ABA |
| 单子叶植物 | | | | | |
| 大麦 | *blt14* | *blt14.2*,*A086* | *rlt1412* | NK | — |
| | | *blt14.1* | *rlt1421* | | |
| | *blt4* | *blt4.2*,*blt4.6*, | | LTP | 干旱 |
| | | *blt4.9* | | | |
| | *blt101* | *blt101.2* | *ESI3* | NK | — |
| | *blt63* | — | — | EF-1a | NK |
| | *HVA1* | — | — | D-7LEA | ABA |
| | *blt801* | — | *Ccr1* | RNABP | ABA |
| 裸麦 | *rlt1412* | *rlt1421* | *blt14* | NK | — |
| 小麦 | *Wes120* | *Wes200*,*Wes661* | — | D-11LEA | — |
| | *Wes19* | — | — | NK | — |
| | *cor39* | — | *lti30*,*cap85* | D-11LEA | 干旱,ABA |
| | *Wcor410* | — | — | D-11LEA | 干旱,ABA |

AFP:抗冻蛋白;ABA:脱落酸;LEA:胚胎发育晚期丰富蛋白;RNABP:RNA 结合蛋白;bbc:胸腺基本保守基因;HSP:热激蛋白;ADH:醇脱氢酶;14-3-3:激酶调节蛋白;LTP:类脂转移蛋白;EF-1a:延长因子;*ESI3*:芽草盐激诱导基因;NK:不明。

**2. 渗透调节基因**

参与渗透调节的细胞内溶质有从外界进入的,也有植物细胞内合成的。因而,对于渗透调节相应地涉及到这两种过程的多种基因,一类是直接或间接参与渗透调节物质运输的蛋白及其基因,另一类是参与渗透调节物质合成的酶及其基因。另外与渗透调节有关的还有水分的进出,因此也涉及到植物细胞水孔蛋白及其基因的表达和调控。如控制钾离子吸收的两个系统,均属于渗透调节物质运输蛋白,包括低亲和钾的组成系统(trk)和高亲和钾的渗透诱导系统(kdp),kdp 由三个协同诱导基因 *kdpA*、*kdpB*、*kdpC* 所编码,*kdpA*、*kdpB*、*kdpC* 的下游是两个调节基因 *kdpD* 和 *kdpE*。*kdpD*、*kdpE* 的产物调节 *kdpA*、*kdpB*、*kdpC* 的表达,在渗透胁迫条件下,由于细胞失水导致膨压下降,诱导 *kdpA*、*kdpB*、*kdpC* 的表达,促进 $K^+$ 由细胞外进入细胞内。对于脯氨酸生物合成,从它的前体谷氨酸开始共涉及三个酶,即谷氨酸激酶、谷氨酰磷酸还原酶和吡咯啉-5-羧酸还原酶,编码这三个酶的基因分别为 *proA*、*proB* 和 *proC*。而甜菜碱的生物合成关键酶是甜菜醛脱氢酶(BADH),有研究表明,盐胁迫可诱导 BADH 的 mRNA 转录明显增加。

## 第二节 逆境信息传递

植物的生长发育主要受遗传信息和环境信息的调节控制。遗传信息决定个体发育的基本潜在模

式，环境信息对遗传信息的表达起着重要的调节作用。在上一节的内容中，我们曾讨论了植物对逆境胁迫的适应性，而植物在对逆境胁迫做出主动的适应性反应之前，植物必须有感知、传递和处理环境刺激信号的过程。如果能够对植物感受和传递逆境的生理及分子机制有深入的了解，显然有助于人们有目的地主动调控植物的生长发育，以期有效地提高植物或作物的抗逆性而造福于人类。到目前为止，人类已经对植物感受并传递逆境信息的机理有了一定了解。例如，在植物对土壤干旱胁迫的逆境信息传递过程中，植物的根尖首先感受干旱（或水分亏缺）信号，并将干旱信息由ABA携带由根部传递到地上部；到达地上部的ABA作用于叶片气孔保卫细胞而导致气孔关闭，气孔关闭可使植物蒸腾作用降低而保持体内的水分含量。又如，植物叶片被虫咬后可引起全身性的防御反应，这可能是由电波、茉莉酸和寡聚糖来传递信息的。一般来讲，当植物体感受到逆境刺激信号后，就会首先在局部产生携带逆境信息的信号分子或物理信号，通过这些物理或化学的信号分子，逆境信息被传递至与植物适应性反应相关的组织或细胞。对于由多细胞构成的高等植物而言，其整体水平上的信息传递过程有赖于细胞水平上的信号转导（signal transduction）。对于接受被传递的逆境信号的细胞来讲，无论是直接来自环境的刺激信号、还是来自其他活细胞所产生的信号，均可被认为是胞外信号。而由胞外信号经跨膜信号转导过程而在胞内作用所产生的进一步信号（如第二信使等），则属信息传递过程中的胞内信号。本书第十八章已就植物细胞的跨膜和胞内信号转导的一般机制进行了讨论，本节将主要讨论植物逆境信息传递过程中胞外信号的传递，包括水信号、化学信号和电信号。

## 一、水　信　号

水信号（hydraulic signal）是指能够传递逆境信息，进而使植物做出适应性反应的植物体内水流（water mass flow）或水压（hydraustatic pressure）的变化。长期以来，人们一直将特定的叶片水分状况（水势、渗透势、压力势和相对含水量）与特定的胁迫程度相联系。在以往许多文献中，一般将土壤干旱对植物的影响普遍解释为：当土壤干旱时，水分供应减少，因而根部的水分吸收减少；由于地上部蒸腾作用的存在，使得叶片水势、膨压下降，继而影响到脱落酸、细胞分裂素等植物激素的合成、运输、分配以及地上部的生理代谢活动（如光合、呼吸、气孔运动等），最终影响植物的生长发育。显然，这一解释的基础是假定根冠间通讯是靠水的流动来实现的。但已有很多实验结果表明，在叶片水分状况尚未出现任何可检测的变化时，地上部对土壤干旱的反应就已经发生了，从而使植物避免或至少推迟了地上部分的脱水，有利于植物的生长发育。这说明植物根与地上部之间除水流变化的信号外，还有其他能快速传递的信号的存在。近年来，人们开始注意植物体内静水压变化在环境信息传递中的作用。由于水的压力波传播速度特别快，在水中可达每秒1500m，因此静水压变化的信号比水流变化的信号要快得多，这有利于解释某些快速反应（如气孔运动、生长运动等）的现象。最近由于在细胞膜上发现有水孔蛋白（aquaporin）的存在，使人们对于植物体内水信号的存在和作用予以了更多的关注。相信人们的进一步研究将使我们对由水流和静水压信号介导的逆境信息传递机制有更清楚的了解。

## 二、化学信号

化学信号（chemical signal）是指能够把环境信息从感知位点传递到反应位点，进而影响植物生长发育进程的某种激素或除水以外的某些化学物质。根据化学信号的作用方式和性质，可分为正化学信号、负化学信号、积累性化学信号和其他化学信号等。正化学信号是指随着环境刺激的增强，该信号由感知部位向作用部位输出的量也随之增强；反之则称为负化学信号。积累性化学信号则是指在正常情况下，作用部位本身就含有该信号物质并不断地向感知部位输出，以保证该物质维持在一个较低的水平；当感知部位受到环境刺激时，可导致该物质输出的减少，表观上则是该物质积累增加，当其积累超过一定阈值时其调节生理生化活动的作用也就明显地表现出来。

**1. 正化学信号**

对水分胁迫下植物木质部汁液的分析表明，随着土壤水分的亏缺，汁液中阴离子、pH、氨基酸、细胞分裂素的浓度是下降的，但脱落酸(abscisic acid, ABA)的含量却是上升的。大量研究表明，水分胁迫下根系可以合成 ABA。Davies 等人认为根系中积累的 ABA 可以作为感知根系周围水分状况的一种信号物质。例如，在分根实验中(将一株植物的根系分置于不同条件的两个空间)，处于水分亏缺中的那一半根系和水分状况良好的那一半根系相比含有较多的 ABA；如果将一小部分根系从土壤中分离出来，在空气中脱水 1～2 小时，则其 ABA 含量大增。广泛的分析表明，同一根系中不同部位根中 ABA 含量和其所处的土壤水分状况是一致的。这些实验似乎表明，只要根系周围的水分降低到 −0.3～ 0.2MPa时，根系的部分脱水便可以刺激 ABA 的产生。如果在水分胁迫下，根系产生了 ABA，那么当叶片进行蒸腾时，木质部汁液中的 ABA 浓度及叶片中的 ABA 含量必然会增高。Zhang 和 Davies 的实验表明，干旱初期，叶片总 ABA 含量并不发生变化，但如果单独对下表皮进行分析，则可发现其 ABA 含量大幅度上升。另外的实验还证明，当阻止蒸腾时则看不到 ABA 的积累，这说明 ABA 是通过木质部汁液流入叶中的。对木质部汁液中 ABA 的分析表明，浇水良好的玉米和向日葵的木质部汁液中含有 100nmol/L 左右的 ABA，当植物受到中度水分胁迫时，其浓度可上升 1～2 个数量级，而此时叶中的水势并未改变。在其他一些植物中，水分胁迫可使木质部汁液中 ABA 浓度增加 25～50 倍。

大量研究表明，将 ABA 饲喂到木质部中可以影响叶片气孔行为。在玉米和向日葵中这种由于水分胁迫导致木质部汁液中 ABA 增加而引起的气孔关闭现象是非常明显的。在水分状况良好的植物根中施入 ABA 可导致木质部汁液中 ABA 增加和叶片气孔导性下降，这种明显的一致关系表明，干旱引起的气孔关闭确是由于从木质部中运来的 ABA 的积累引起的。另外，更加定量化的实验也证明这一点，如将玉米木质部汁液中的 ABA 用免疫亲和法去除后，这种汁液对气孔运动及蒸腾作用的调节作用也随之消失。所有这些实验都表明木质部汁液中 ABA 是一种非常重要的调节气孔导性的物质。

尽管越来越多的研究证明起源于根中的 ABA 是调节气孔运动的重要物质，但是几乎并没有什么很直接的证据能够证明气孔的关闭恰恰就是这部分 ABA 的直接作用。一些研究者认为，在干旱初期，尽管叶片的 ABA 总量没有发生变化，但 ABA 的再分配可能对气孔的关闭起着更为重要的作用。事实上也说明，ABA 在叶片中的区隔化和再分配是必要的，因为如果认为 ABA 是随着木质部蒸腾流进入叶片并导致气孔关闭的话，那么叶片必须能够严格区分其自身的 ABA 和由根系中运来的 ABA，甚至还要区分出先进来的 ABA 和后进来的 ABA。此外，研究表明由于快速扩展的幼嫩叶比成熟叶中含有更多的 ABA，所以，如果 ABA 能调节叶片扩展速率，也必须有严格的区隔化。一些研究者认为，尽管 ABA 的生物合成是在细胞质中进行的，但游离 ABA 在叶中的分布主要由各部分的 pH 所决定，在光下叶绿体基质 pH 要比其他部分高，所以 ABA 易于以质子化的形式进入叶绿体并在那里积累。根据 Milbrrow 的计算，如果叶绿体基质和细胞质的 pH 分别是 7.5 和 6.5，则 ABA 在两部分的分配比为 10：1。图 19-2 表示 ABA 在植物体内的运输途径以及在叶片组织中的可能分布情况。

Hartung 等人根据以往对生物膜细胞及组织的生物物理、生物化学及形态解剖方面的研究资料建立了一套数学模型，并以此对 ABA 在组织和细胞中的区隔化和再分配给予了较详细的分析。他们认为，ABA 在组织及细胞中的区隔化受很多因素的控制，主要包括各部分的 pH、体积及缓冲力的大小，膜系统(质膜、液泡膜、叶绿体被膜)及胞间连丝对 ABA 的透性、结合态及束缚态 ABA 与游离态 ABA 的转化以及 ABA 的生物合成与代谢的速率等。正常情况下，诸因素的综合作用使得 ABA 在组织及细胞中各部分的分布有一个相对独立而稳定的动态平衡，这样就可以保证 ABA 被排除在不必要的作用位点之外，避免干扰植物正常的生理生化过程。但是，一旦植物受到某种环境的刺激时，那么控制 ABA 区隔化的某些平衡就可能被打破，结果必然导致 ABA 的再分配，一旦有足够量的 ABA 在

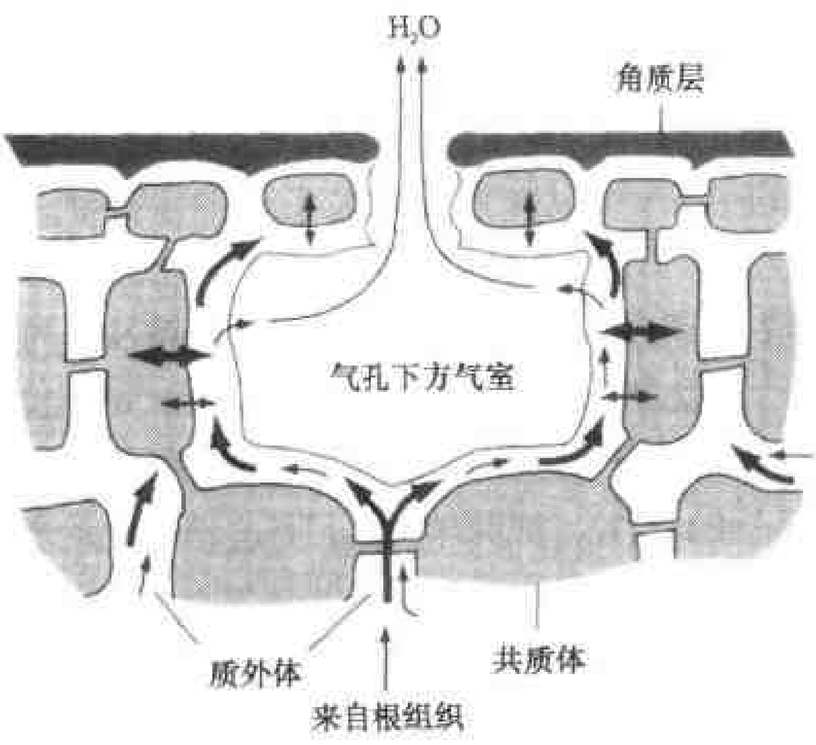



图 19-2 ABA 在植物体内的运输途径

在根部合成的 ABA 随蒸腾流运输至叶肉组织，ABA 可以进入叶肉细胞叶绿体而被贮存，也可作用于气孔保卫细胞。

某些作用位点积累，那么 ABA 的某些生理生化功能就会显现出来。据此 Hartung 等认为，水分胁迫导致气孔关闭就有可能是叶片中 ABA 再分配的结果。一些研究表明，ABA 对保卫细胞的作用位点很可能位于质膜外侧。那么，一个有趣的问题是干旱如何导致 ABA 在保卫细胞质膜外侧即保卫细胞壁中积累的呢？Hartung 等人推测大概有三种可能性。

①干旱可导致表皮细胞和叶肉细胞胞间连丝对 ABA 透性的降低，这样表皮细胞质中的 ABA 不能通过共质体回流到叶肉细胞的胞质中，其结果可导致 ABA 在表皮细胞质外体及保卫细胞壁中的积累，但是这种方式造成的 ABA 积累速度太慢，不足以解释干旱引起的数分钟内气孔关闭现象，但对维持气孔关闭可能起到一定作用。

②干旱可以使表皮细胞质膜对 ABA 的透性降低，从而减慢了质外体 ABA 向表皮细胞中的扩散速率，使 ABA 在保卫细胞壁中积累，但积累的幅度主要受叶肉细胞和表皮细胞质外体间的 pH 梯度所决定，如果梯度大于 0.5 个单位，那么数分钟内 ABA 积累的量即超出正常水平的 2 倍以上，Hartung 认为这个量足可以导致气孔的关闭。

③干旱可以使各区隔部分的 pH 发生变化，但由于质外体中的缓冲能力最小，所以和其他部分相比质外体中的 pH 变动幅度最大(pH 升高)，其结果可导致保卫细胞壁中 ABA 快速大量的积累。因此，pH 变化可视为是一种最为有效地激发 ABA 再分配从而导致气孔关闭的方式。那么，干旱为什么可以导致各部分的 pH 变化？一些研究者认为这主要是由于位于质膜上的 $H^+$-ATPase 受到抑制或向胞质内的 $H^+$ 共运输过程得以促进形成的。至于哪一种细胞质膜上 $H^+$-ATP 酶受到抑制或者说哪种细胞才是最有效的导致保卫细胞壁中 ABA 快速而大量的积累，Hartung 对保卫细胞、叶肉细胞和表皮细胞做了比较和分析，他认为，如果干旱只导致保卫细胞的胞质和质外体的 pH 变化，那么保卫细胞壁中不会有大量 ABA 积累，因此，如果认为细胞某一部位有一种感知干旱逆境信息的因子(sensor)存在，那么，该因子不位于保卫细胞中。但是保卫细胞内的 ABA 向质外体扩散可能是维持气孔关闭的原因之一。

**2. 负化学信号**

在植物根与冠间的信息传递中是否存在负化学信号，至今还有不同看法。在上面的讨论中，可以看出，只要很少的一部分根系处在胁迫之中，气孔导性便可以受到影响，如果认为这部分根是由于胁迫而使负信号停止产生，那么这种信号物质的减少也只有正常条件下由根向茎叶运输的百分之几。人们不清楚植物是否会对如此小的信息量的改变做出反应。此外，Jones 还指出由于根系体积是不断变化的，那么这种物质也必然会随之发生变化。所以，负信号物质不可能携带土壤水分状况的信息。在大量的有关负信号的研究中，可能性最大的信号物质是由根向茎叶运输的细胞分裂素。

早期工作证明，木质部汁液有细胞分裂素的活性；而另有人则证明向日葵在干旱条件下，可以降低细胞分裂素的产生和运输；也有实验表明，外施细胞分裂素可以增加气孔的开张和蒸腾。Davies 等的分根实验也曾证明外施细胞分裂素可以使完全关闭的气孔张开，高浓度的细胞分裂素可以抑制 ABA 对气孔的关闭作用。所以，可以想像，当土壤失水时，细胞分裂素的减少可以增强植物茎叶对 ABA 的敏感性。这似乎表明，干旱条件下细胞分裂素有可能和其他信号共同起作用来控制气孔的开

闭。

Schurr 和 Collan 证明了无机离子的作用，向日葵中随着 $NO_3^-$ 和 $Ca^{2+}$ 通过木质部液流的减少，气孔对 ABA 的敏感性会发生很大变化。Radin 及其同事也强调土壤中的离子在气孔对 ABA 的敏感性中有很大作用。所以，这些结果表明，正负信号可能结合在一起共同对茎叶的生理过程产生影响，或许在轻微干旱的情况下，正信号起着主导作用，随着干旱的继续加重，负信号的作用可能逐步增大。

**3. 积累性化学信号**

Jackson 和 Hall 曾报道了在淹涝情况下，叶片中的 ABA 浓度增加是一个积累信号。即在正常情况下，叶片可以产生 ABA 并通过韧皮部向根系运输，当根系淹涝时 ABA 向下运输的量减少，导致叶中 ABA 浓度增加。但在干旱的情况下，由于根系的活性并未下降多少，甚至有所增加，所以 ABA 向下运输减少的情况不大可能产生，随着土壤干旱的逐步加强，根生长活性受到很大抑制，在这种情况下积累信号的作用有可能增加。

**4. 其他化学信号**

Stewart 曾证明溶液中阴阳离子的平衡发生微小变化将可以控制溶液的 pH。Schurr 和 Gollan 证明在水分状况良好的植物中，其木质部汁液中含有较多的阴离子，而水分亏缺的植物中含有较多的阳离子。Hartung 认为这种阴阳离子差可使质外体液流碱化，因此可以作为一个信号，此信号将使叶中的 ABA 重新分配，最终引起气孔关闭。另有人利用免疫亲和层析技术将小麦木质部汁液中的 ABA 除去后喂给供水良好的植株，结果表明，虽除去 ABA 但并没有除去木质部汁液对蒸腾的抑制作用，说明必然有一种未知因子在发挥着信息传递的作用。

**5. 化学信号分子的种类**

目前已发现的化学信号分子已有几十种，主要包括以下几类。

(1)*植物激素类*　植物中已发现的五大类植物激素(生长素、赤霉素、细胞分裂素、脱落酸和乙烯)都可以作为胞外信号分子传递环境信息。在植物感知土壤干旱时，ABA 可通过木质部传递到地上部，调控叶片生长和气孔开关；IAA 在传递植物对重力反应中起重要作用；乙烯在传递植物根淹水信息中起到信号作用。另外，茉莉酸(jasmonic acid, JA)，茉莉酸甲酯(Me-JA)、水杨酸(salisylic acid, SA)等也都被发现可作为胞外信号分子传递逆境信息。Me-JA 诱发水杨酸前体的作用酶(苯丙氨酸氨基水解酶，PAL)、生物碱、蛋白酶抑制剂，可在信号传递中起中介作用并诱导从受伤反应的 ABA 积累到基因的转录激活。水杨酸广泛分布于单、双子叶植物，它是惟一确认的在生理相关浓度下显示出对微生物病原体抗性的信号分子。最近还发现乙酰胆碱在植物逆境信号传递中也起一定作用。

(2)*寡聚糖类*　主要包括 1,3-β-D-葡聚糖、半乳糖、聚氨基葡萄糖、富含甘露糖的糖蛋白等。已发现真菌细胞壁中 β-葡聚糖成分诱导物以激素作用方式与植物细胞膜上受体高度亲和从而影响抗性基因的表达。大豆细胞壁上纯化的葡聚糖诱导物可以附着于膜上。这都表明细胞壁中寡聚糖成分在真菌与植物的相互作用中起重要作用。寡聚糖除了影响抗性基因表达外还可激活蛋白酶抑制剂(proteinase inhibitor)，此外还参与蛋白质磷酸化、离子流和动作电位等。寡聚糖类化学信号由于有其作为细胞壁成分和植物与微生物相互作用的特殊一面，已成为植物细胞胞外信号中最引人注目的信号分子之一。

(3)*多肽类*　当受到虫咬或其他环境刺激时，在番茄和马铃薯叶片中可合成蛋白酶抑制剂的诱导物，它是一类可以移动的由 18 个氨基酸组成的多肽，称为系统素(systemin)。系统素可在低浓度下诱导抑制其他生物的蛋白酶功能的丝氨酸类蛋白酶抑制剂，这些抑制剂也是植物受到伤害后产生抗性所必须积累的因子，它们能使叶蛋白的消化性和营养性降低。因此系统素也称作蛋白酶抑制剂的诱导因子，它可以通过植物韧皮部从受伤部位运输到不受伤部位，这是植物体内发现的第一种可以传

递信号并调节植物生理功能的多肽类胞外信号。

另外,目前也有人认为胞外$Ca^{2+}$、$H^+$及其跨膜梯度的变化可能作为胞外信号分子而在逆境信息传递过程中发挥作用。

## 三、电　信　号

植物体内的电信号(electrical signal)是指植物体内能够传递信息的电位波动。娄成后等人经过数十年的研究后认为,高等植物体内的信息传递可靠电化学波来实现,植物体内电波的传递可以靠细胞间的局部电流和伤素的释放相互交替来完成,维管束系统是电波传递的主要途径。一些敏感植物或组织(如含羞草的茎叶、攀缘植物的卷须等),当受到外界刺激时,会发生运动反应(如小叶闭合下垂,卷须弯曲等)并伴随有电波的传递。甚至非敏感植物也能够对外界刺激产生兴奋从而导致动作电位、变异电位或复合电波的产生。那么,令人感兴趣的问题是,植物中电波的产生和传递有无生理意义?对烧伤刺激引起的气孔运动和叶片伸展生长的抑制进行研究的结果表明,在烧伤刺激引起相应生理效应时伴随有电信号的传递;如果阻断电波的传递,则刺激就不能导致生理效应的产生。研究系统素(systemin)在传递植物受到虫咬或其他机械损伤刺激信号过程中的作用时,也发现伴随有电波的传递。至于电波传递介导刺激信号传递的详细生理及分子机制尚有待进一步的深入研究。

外界的各种刺激,例如光、热、冷、化学物质、机械、电以及伤害性刺激等,都可以引起植物体内电信号的产生及电波传递反应,而电波传递又与植物的生理效应相关联。例如含羞草叶的下垂运动、捕蝇草中捕虫器的关闭、胞质环流的启动或停止、蒸腾强度的变化、卷须的伸长生长及盘旋运动等,都分别伴随有动作电位、自发电位、变异电位的产生或消失。因此,电波传递是高等植物体内信息传递的一种重要方式。

## 四、植物体内的逆境信息传递机制

一般来讲,当胞外信号将逆境胁迫信息传递至某一活细胞时,受胞外信号作用的活细胞通过其膜上的受体及其下游的膜蛋白(如G蛋白等)将逆境信息传递至胞内,作为胞内信号的胞内第二信使系统(如$Ca^{2+}$、$IP_3$、cAMP)再将逆境信息进一步传递下去,或是影响基因的表达及其调控、或是更为直接地引起胞内生理生化过程的变化。这些内容已经在第十八章中有较为详细的描述。图19-3简要地概括了逆境胁迫信号激活基因表达的模式过程。

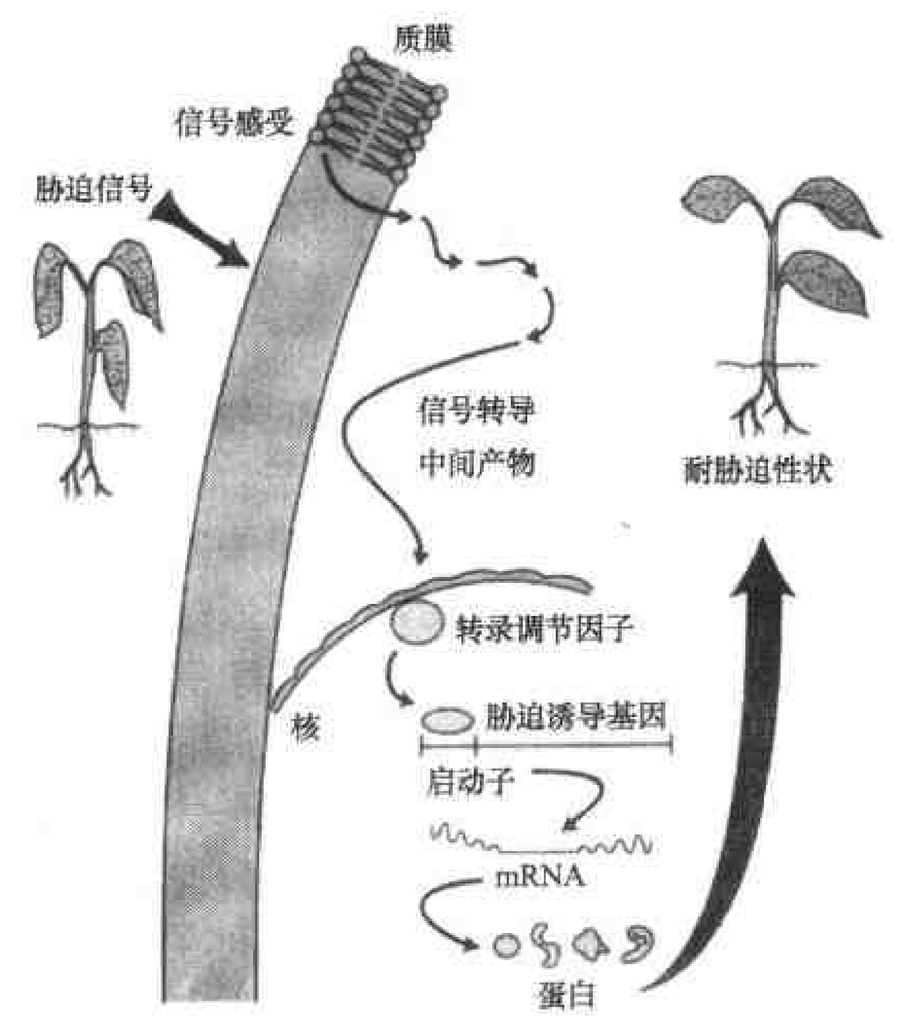


图19-3　胁迫信号激活响应胁迫基因表达的过程示意图

# 第三节　植物的抗旱性

地球上缺乏淡水资源早已成为举世关注的战略性问题,而淡水资源中的大部分被用于灌溉大田的栽培作物。目前全球干旱、半干旱地区面积占陆地总面积的34.9%。就耕地而言,干旱、半干旱耕地的面积占世界总耕地面积的42.9%。在我国的总耕地中,48%的面积处于干旱、半干旱地带,其中没有灌溉条件的旱地约占总耕地面积的51.9%。随着世界人口的剧增,粮食的供求矛盾日益突出,

淡水资源日渐短缺，世界各国对如何提高植物或作物的抗旱性的研究予以了高度重视，而且已经在培育抗旱性作物品种方面开展了广泛深入的研究。随着基因工程及分子育种技术的广泛应用，在整体、细胞、分子水平上深入研究植物抗旱性的生理机制已愈来愈成为以提高植物抗旱性为目的的应用研究的重要基础。

# 一、干旱对植物的影响

## （一）干旱的类型

当植物耗水大于吸水时，植物体内就出现水分亏缺现象。植物水分亏缺的程度通常利用水势和相对含水量(RWC)来表示。根椐引起水分亏缺的原因，可将干旱分为三种类型。①大气干旱。当大气温度高、光照强，空气中相对湿度低(10%～20%)，尽管土壤中有水，根系活动也正常，但由于蒸腾强烈，失水量大于根系吸水量而使植物受害的现象，称为大气干旱。如我国西北等地就常有大气干旱出现。大气干旱如果持续时间过久便会引起土壤干旱。②土壤干旱。当土壤中缺乏可被植物吸收利用的水分，根系吸水困难，植物体内水分平衡遭到破坏、致使植物生长缓慢或完全停止生长的现象，称为土壤干旱。受害情况比大气干旱严重，我国的西北、华北、东北等地区均常有土壤干旱发生。③生理干旱。由于根系正常的生理活动受到阻碍而使土壤中的水分不能被根系吸收，由此而造成的植物受旱现象被称之为生理干旱。如盐碱土、施化肥过多、土壤存在有毒物质、土壤温度过低等都可能导致生理干旱，严重时可造成植株死亡。

## （二）干旱对植物的伤害

干旱时，当植物失水超过了根系吸水，随着细胞水势和膨压降低，植物体内的水分平衡遭到破坏，出现了叶片和茎的幼嫩部分下垂的现象，被称之为萎蔫(图 19-4)。萎蔫可分为暂时萎蔫和永久萎蔫。夏天炎热的中午，由于强光高温蒸腾剧烈，根系吸水一时来不及补偿，使幼叶嫩茎萎蔫。但到傍晚或次日清晨随着蒸腾量的下降，根系继续吸水，即使不浇水也能解除水分亏缺，使茎叶恢复原状。这种靠降低蒸腾即能消除水分亏缺以恢复原状的萎蔫，称为暂时萎蔫。它是植物经常发生的对干旱的适应性现象，萎蔫时由于气孔关闭可以降低蒸腾作用，调节水分的散失。这对植物是有利的。如果由于土壤中可供植物利用的水分过于缺乏，萎蔫的植物经过夜晚后也不能消除水分亏缺，以恢复原状，这种现象称为永久萎蔫。永久萎蔫造成原生质严重脱水，引起一系列的生理生化变化，如果时间持续过久，就会导致植物死亡。干旱对植物的伤害主要表现在以下几个方面。

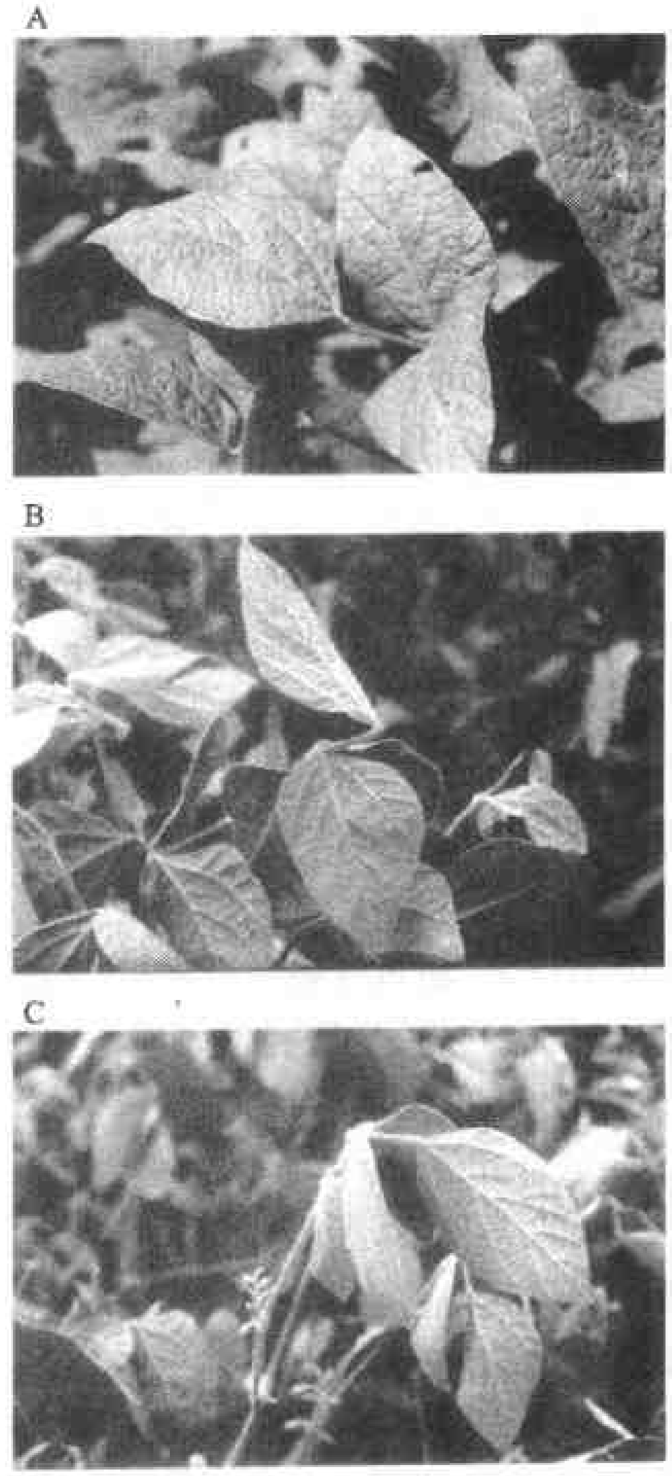



图 19-4　水分胁迫引起的大豆叶片萎蔫现象

A．正常水分状况；B．中等程度水分胁迫；C．严重水分胁迫。

**1. 膜及膜系统受损伤**

当细胞失水达到一定程度时，膜的磷脂分子排列出现紊乱状态，往往亲脂端相互吸引形成孔隙，膜蛋白也遭到破坏，因此膜的选择透性丧失，透性增加。内质网膜系统也因水分胁迫遭到破坏，形成叠状体，膜中的脂类物质大量释出。

**2. 对细胞器的伤害**

水分胁迫使各种细胞器，特别使叶绿体和线粒体受到伤害。干旱使叶绿体类囊体片层数目减少、扭曲，线粒体发生变形、内嵴数目减少，细胞核核膜模糊，染色质凝聚。

**3. 体内各部分间水分重新分配**

水分不足时，不同器官或不同组织间的水分，按各部分水势大小而重新分配。干旱时，幼叶从老叶夺取水分，促使老叶死亡，减少了光合面积。更有甚者，干旱的幼叶从花蕾或果实中吸水，这样就会造成瘪粒和落花落果等现象。

**4. 破坏正常的物质代谢**

随着植物体内含水量降低，合成代谢减弱，水解代谢加强。这与酶的存在状态有关，催化合成的酶处于膜吸附状态，而催化分解的酶则是可溶性的。当植物失水后，处于吸附状态的酶变为可溶状态，因此分解代谢加强。一般说来，干旱时植物体内蛋白质合成过程消弱，而分解过程加强。干旱时植物体内蛋白质减少而游离的氨基酸增多，特别是脯氨酸。有人测定，在正常水分条件下植物体内游离脯氨酸含量为0.2～0.6mg/g(按干重计)，当干旱脱水时脯氨酸含量可达40～50mg/g(按干重计)。干旱条件下积累脯氨酸可能有以下几方面的原因：①蛋白质分解的产物；②脯氨酸合成受激；③脯氨酸氧化作用减弱。一般认为脯氨酸可以做为细胞的渗透剂(cytoplasmic osmoticum)。由于脯氨酸具有偶极性，其疏水端与蛋白质联结，而亲水端与水分子结合，从而使蛋白通过脯氨酸束缚更多的水，防止在渗透胁迫条件下蛋白质脱水，并可防止或减轻由于渗透胁迫而引起酶蛋白的变性。这一切都说明脯氨酸的积累在调节细胞的渗透势和稳定蛋白质特性方面有比较重要的作用。

**5. 激素的变化**

植物遇到干旱时，植物内源激素变化的总趋势是促进生长的激素减少，而延缓或抑制生长的激素增多。许多试验都证明，水分胁迫时ABA显著增加，CTK减少。ABA能有效地促进气孔的关闭，CTK的作用恰好相反，使气孔在失水时不能迅速关闭。所以ABA能缓解植物体内水分亏缺，CTK却加剧体内的水分亏缺。因此，在干旱条件下，CTK/ABA比值减少可能是一种保护性反应，有利于植物体内保持较好的水分状态。

**6. 酶活性变化**

植物体内不同酶类的活性对水分胁迫反应不一，但总的趋势是在水分胁迫条件下，合成酶类和一些本身周转很快的酶活性下降，而水解酶类和某些氧化还原酶类活性增高。例如在叶绿体中是与光合有关的酶类活性下降，核酸酶的活性提高，进而抑制蛋白质的合成。小麦、水稻的一些品种，在水分胁迫条件下，超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)活性迅速上升，以清除自由基使生物膜免受伤害。硝酸还原酶是植物体内周转很快的酶，轻微的缺水就能使其活性显著下降，重新供水可使酶活性恢复。

**7. 呼吸作用增强**

缺水条件下，呼吸作用在一段时间内加强，这是因为细胞中酶的作用方向趋于水解，即水解酶的活性加强，合成酶的活性降低，甚至完全停止，从而增加了呼吸基质。在严重干旱条件下会导致氧化磷酸化解偶联，P/O比下降，因此呼吸产生的能量多半以热的形式散失掉，ATP合成减少，从而影响多种代谢过程和生物合成的进行。随着水分亏缺程度加剧，呼吸作用逐渐降低到正常水平以下。

**8. 光合作用下降**

很多植物如小麦、蚕豆、棉花等，随着土壤水势的降低，光合作用剧烈下降。这种抑制作用既有气孔效应，又有非气孔效应。水分亏缺使气孔开张度减少，甚至完全关闭，气孔阻力增大影响$CO_2$的吸收，使光合作用下降，这种现象称为光合作用的气孔抑制。当严重的水分胁迫使叶绿体的片层结构受损，希尔反应减弱，光系统II活力下降，电子传递和光合磷酸化受抑制，导致光合作用下降，这种现象

称为光合作用的非气孔抑制。

总之，干旱对植物的伤害是多方面的，大致可以分为直接伤害和间接伤害。前者是指细胞脱水，破坏了细胞结构，引起了细胞死亡；后者是由于细胞失水引起的代谢失调、营养缺乏、加速衰老、降低产量等。图 19-5 表示由干旱引起的组织水势下降对植物细胞生长和光合作用的影响。

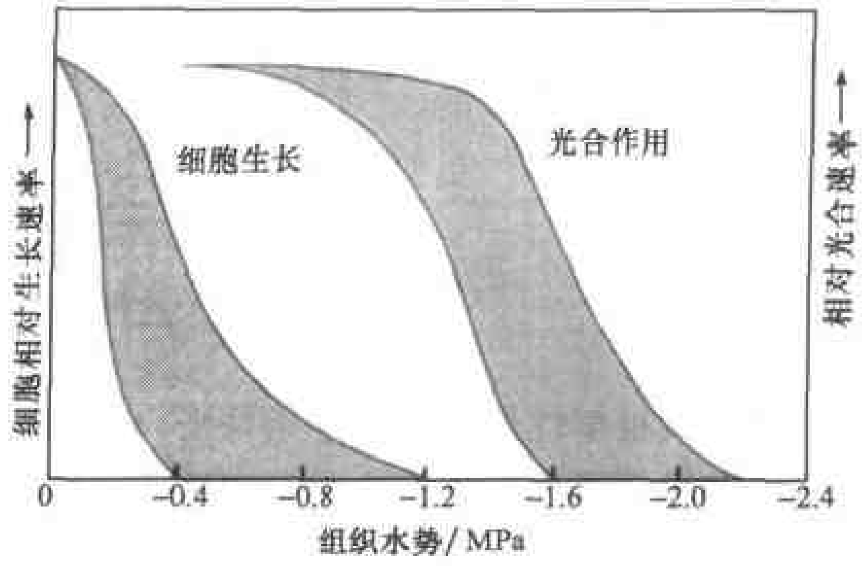



图 19-5 组织水势下降对细胞生长和光合作用的影响
阴影部分表示不同种植物对水势变化反应的不同范围。图中结果显示，细胞生长对水势下降的反应比光合作用的反应更为敏感。

## 二、干旱胁迫的机理

### 1. 机械损伤

干旱对细胞的机械损伤是造成植株死亡的重要原因。当细胞失水或再吸水时，原生质体与细胞壁均会收缩或膨胀，但是由于它们的弹性不同，二者之间的收缩程度和膨胀程度不同。在正常条件下，生活细胞的原生质体和细胞壁紧紧贴在一起，当细胞开始失水体积缩小时，两者一并收缩，到一定限度后细胞壁不能随原生质体一起收缩，致使原生质体被拉破。相反，失水后尚存活的细胞如再度吸水，尤其是骤然大量吸水时，由于细胞壁吸水膨胀速度远远超过原生质体，使其再度遭受机械损伤。

### 2. 膜透性改变

水分亏缺时细胞脱水，导致膜脂分子排列紊乱，使膜出现空隙和龟裂，透性提高，电解质、氨基酸和可溶性糖等向外渗漏。例如，葡萄叶片干旱失水时细胞的相对透性比正常叶片提高 3～12 倍。

### 3. 蛋白质凝聚假说

由于干旱使细胞过度失水时，蛋白质的活性表面相互靠近，使得分子间的—SH 相互接触，导致氧化脱氢形成—S—S—键，此键键能高，比氢键牢固得多，故若再度吸水时，蛋白质空间构象变化，使其变性凝聚，从而导致细胞死亡。提出该假说的根据是发现失水的白菜叶子二硫键含量增加，失水越严重，二硫键含量越高。假说认为，抗旱植物含有抗巯基氧化的特殊蛋白质，这种蛋白质具有特殊空间结构，不易脱水，不易变性。植物抗旱的强弱，取决于该种蛋白质的有无和多少。可惜到目前为止尚未分离到该种蛋白质。

### 4. 脯氨酸代谢

脯氨酸是植物蛋白质的组成之一，它以游离状态广泛存在于植物体中。一般游离脯氨酸含量很低[0.2～0.6mg/g(按干重计)]，约占游离氨基酸总量的百分之几。但在干旱、高温、寒冷等逆境下游离脯氨酸大量积累。一般当叶片水势下降导致气孔关闭之后脯氨酸开始积累。缺水时脯氨酸积累的原初部位主要是叶，其次是茎，其他器官内的脯氨酸来自于叶片。脯氨酸在细胞中存在于细胞质中。植物体内游离脯氨酸的含量决定于合成、分解或利用的速度。抗旱性不同的植物脯氨酸积累存在差异，抗旱性强的积累更多的游离脯氨酸。由于脯氨酸的积累可作为细胞质的渗透物质，从而细胞质抗渗透胁迫能力增强。脯氨酸本身是一种水溶性很大且无毒的中性溶质，大量积累不会对细胞产生毒害作用。脯氨酸积累还会降低干旱期间蛋白质水解产生的游离氨毒害，贮藏氮源和碳架，为干旱解除后恢复生长提供呼吸基质和能源。脯氨酸对膜和代谢功能还具有保护效应，因脯氨酸具有偶极性，它不会渗入到蛋白质分子间疏水相中引起蛋白变性，脯氨酸的疏水端与蛋白质分子表面的疏水基结合，亲水端与水分子结合，从而增强了膜结构的稳定性。

### 5. 离子吸收

土壤水势下降，根系对离子的吸收和运输减慢。其原因在于：①由于吸水减少，土壤中离子向根

表面的运输减慢；②由于蒸腾速率下降，离子在植物体内的运输速率下降，特别是经质外体途径运输的离子更易受蒸腾速率的影响；③根系活力下降，吸收离子的能力减弱；④部分根系死亡，减少了吸收表面。

## 三、植物抗旱机理

### （一）植物的抗旱性及形态与生理特点

植物的抗旱性是指在干旱条件下，植物具有不但能够生存，而且能维持正常的或接近正常的代谢水平以及维持基本正常的生长发育进程的能力。不同植物或同一植物不同品种抗旱性不同。一般说来，抗旱性较强的植物具有以下一些形态和生理特征。

**1. 形态特征**

通常抗旱性较强的植物根系发达，较深，根冠比较大，能有效地利用土壤中水分，特别是土壤深层的水分。如高粱比玉米抗旱性强。叶片细胞体积小或体积/表面积比值小的植物具有较强的抗旱能力，因为这样可以减少细胞吸水膨胀和失水收缩时产生的细胞损伤。输导组织发达、表皮茸毛多、角质化程度高或脂质层厚，这样的结构有利于水分的贮藏与供应，减少水分的散失。

**2. 生理特性**

（1）*原生质具有较大的弹性和黏性*　弹性和黏性取决于原生质中束缚水含量的高低。束缚水含量高，自由水含量低，原生质的弹性和黏性就大，其保水能力强，遇干旱失水时仍能保持一定的水分，使原生质不致变性凝集，并能忍受高温。原生质弹性大，抗机械损伤能力强。

（2）*生理机能与抗旱*　抗旱性较强的品种在干旱缺水条件下，正常的代谢活性（如光合作用、蛋白质、淀粉等物质的合成、核酸代谢）以及酶活性不受影响或仍能保持在一定水平。从代谢类型看，$C_4$ 植物由于有效的 $CO_2$ 固定方式，显著地提高了水分利用效率。有人测定了苜蓿（$C_3$ 植物）和高粱（$C_4$ 植物）的水分利用效率，发现 $C_4$ 植物是 $C_3$ 植物的三倍。CAM 植物气孔白天关闭，夜间开放，减少了蒸腾失水。水合补偿点（即净光合作用为零时植物的含水量）越低，植物的抗旱能力越强。据报道，高粱的水合补偿点低于玉米。在同样的水势下（$-1.5$MPa），当玉米萎蔫停止光合作用时，高粱仍可维持 25%的光合作用，这是高粱比玉米更为抗旱的原因之一。

（3）*膜脂组分对抗旱性的影响*　研究发现抗旱性强的小麦品种的叶表皮极性脂和中性脂中含饱和脂肪酸较多，不抗旱小麦品种的叶表皮细胞的脂肪酸配比正相反，同时还发现小麦干胚膜脂饱和脂肪酸含量与抗旱性成正相关。

（4）*水分胁迫的综合影响*　以大田条件下干旱胁迫产生的过程为例说明水分胁迫对植物生长发育的综合影响。

轻度胁迫限制了细胞膨大，因而抑制了植物生长。叶细胞膨大一旦停止，叶片便失去作为光合作用库的能力。由于这个时候单位叶面积光合作用并未受到影响，光合作用至少有一部分用于渗透调节或者分配给其他器官，如根，其结果是根冠比变大，叶面积减小，渗透调节可保护细胞不至完全脱水，从而保证叶片继续进行气体交换。

随着水分亏缺程度的增加，老叶出现不同程度的早衰现象，从而导致叶片面积下降。随着叶面积减少，作物水分利用率成比例地下降，植株导水阻力增大。只要渗透调节使蒸腾降低，就能保持整个叶片的膨压，气孔便不会完全关闭，植株便能继续固定 $CO_2$。用气孔阻力和叶肉 $CO_2$ 阻力可部分地确定碳固定的速度及其与蒸腾的关系。如果分生组织中出现了限制细胞生长和分裂的轻度水分亏缺，那么，构成产量因素的分化器官将受到影响。由于生殖生长的分生组织一般不是植株水势最低的部位，而且分生组织有较强的渗透调节能力，因此，在一天中分生组织经受的水分胁迫程度要比蒸腾的

叶片低。

随着水分亏缺进一步增加，植株丧失膨压、气孔完全关闭、生长停止、活叶卷曲、气体交换停止，进入死亡前的不繁殖存活期。在这期间，由于呼吸作用消耗了碳，组织水势缓慢下降。由于蒸腾停止，叶片的温度上升到致死温度，并导致死亡。此时，惟一能保留的是受保护的的分生组织，当分生组织在重新供水后不能恢复和重新生长时，植株就已死亡。

所以，从植物生产角度看，受水分胁迫的植株经历了不同的阶段。因此植物抗旱育种应在不同的生态环境中充分考虑水分胁迫的每个阶段性特点。

## （二）植物的抗旱机制

关于整体植物适应于旱的机制，May 和 Milthorpe 将其归纳为三类机制，即避旱性(drought escape)、御旱性(drought avoidance)和耐旱性(drought tolerance)。其中又把御旱性和耐旱性称为抗旱性(表 19-3)。

**表 19-3　植物避旱和抗旱机理的特性**

| 机理 | 特性 | 机理 | 特性 |
|---|---|---|---|
| 1. 避旱 | 缩短生育期避开干旱 | | |
| 2. 抗旱性 | | | |
| (1)御旱 | (高水势) | (2)耐旱 | (低水势) |
| | a. 减少水分损失 | | a. 保持膨压 |
| | 气孔和角质层阻力大 | | 渗透调节 |
| | 降低辐射能的吸收 | | 细胞壁高塑性 |
| | 叶面积减少 | | 细胞体积小 |
| | b. 保持吸水 | | b. 耐脱水或干化 |
| | 根深 | | 原生质耐性 |
| | 根长密度大 | | 细胞壁特性 |
| | 导水性强 | | |

### 1. 避旱性

所谓避旱性，就是在土壤和植物本身发生严重的水分亏缺之前，植物就已完成其生活史。较典型的如沙漠短命植物，它们在营养结构很小的情况下仍具有开花结实的能力。避旱对于一些栽培作物适应干旱环境也有一定意义，例如我国北方一些地区，在小麦开花灌浆期间常出现干热风，造成小麦青枯减产。由于成熟期较早的品种遇到干热风的机率相对较小，受到的不利影响也往往较轻，因而成熟期在这些地区是小麦品种选育上的一个重要指标。育苗移栽也是避旱的一种有效方法，它至少可以作为一种补苗手段以减少因土壤干旱造成的大田断垅缺苗现象。

### 2. 御旱性

御旱性是指植物在干旱逆境下保持植株内部组织高水势的能力，也有人把御旱性称做组织具有高水势的耐旱性。事实上，能保持体内高水势的植物，其耐旱性不一定很强，在遇到持续少雨或无雨时，根系密度较大而分布较深，吸水功能较强的植物，通常能使植株体内保持较高的含水量和水势。植物受旱时，发生的显著变化之一是根冠比趋于增大，某些沙生植物为了适应环境，以干重计算的根系比例竟占整株重的 90%，虽然削弱了地上部分的生长，减少了光合面积，但有利于维持植株较高的水势和一定的净光合速率。增加木质部导管的直径或数目来降低根-冠之间的水流阻力，也是保持株体较高水势的重要因素。当土壤有效水分急剧减少时，植物对水分的吸收往往落后于丢失，这就需要

限制水分向大气散失。角质层和气孔的调控是植物限制叶片散失水分的主要方式。旱生植物和大多数中生植物的角质层很发达，通过角质层丢失的水分很少，仙人掌只占其总蒸腾量的0.05%。但有的草本植物的角质层蒸腾可占总蒸腾量的32%。气孔是控制蒸腾的主要器官，节水型植物气孔对水分亏缺很敏感，从而能保持较高的御旱能力。气孔对水分亏缺的敏感性和防止水分丢失的作用因植物而异，其阈值随经受干旱的时期、叶位和生长条件而异。高粱关闭气孔所需的水势阈值低于玉米，玉米的气孔虽然在缺水时关闭，但关闭得不彻底，不足以阻止水分继续丢失。气孔开度变小，导致气体交换减少和光合作用降低，然而，水分子和$CO_2$在叶肉细胞内的运输阻力相差很大。气孔减小时，输送水分遇到的阻力比输送$CO_2$的大很多。所以有人认为，部分地关闭气孔是提高水分利用效率(WUE)的一种方法，但这种作用往往被叶温上升所抵消。在干旱逆境下，植物减少失水的另一途径是减少截获的辐射。这类方式包括主动的和被动的叶运动、增加茎叶表皮蜡质或表皮毛。大豆叶片具有感日性运动，当供水充足时，叶子随着太阳改变方向，与入射光垂直，当水分亏缺时，叶子便与入射光平行，这是一种主动的叶运动；另一方面，缺水时作物叶子常常会卷起来，当田间土壤水分不足时，中午烈日下田间玉米经常出现这种现象，它的卷叶是纵向的，水稻和小麦等作物的某些品种则可以看到螺旋状的卷叶，通常这是由于叶片的一部分特化组织的膨压下降所致。当植物受旱暂时萎蔫时，叶子常常变软下垂，这些都是被动的叶运动，其结果使叶子受到的辐射减少，可防止叶温升高和水分亏缺的继续发展。水分亏缺往往引起中生栽培植物的旱性结构加强，例如，与阴地植物相比，阳地植物的叶片厚度、叶片重量、气孔密度都较大，而保卫细胞则较小。水分亏缺也导致一些植物或品种增加叶表面的绒毛，多绒毛品种使光合有效辐射的反射量和叶面边界的阻抗增加，从而减少了失水。某些禾谷类作物适应干旱的又一种重要方式是死蘖和基部老叶的加速死亡，以及在受旱时叶片脱落，其结果都是使地上部分的失水减少，从而增强其适应干旱环境的能力。

**3. 耐旱性**

耐旱性是指植物在受旱时，能在较低的细胞水势下维持其一定程度的生长发育(低的基础代谢水平，低的蛋白质水解合成比率，结构蛋白和功能蛋白的较易修复等)和忍耐脱水的能力。维持一定的膨压是耐脱水机制的一个重要因素。膨压则通过渗透调节，增强细胞壁组织弹性以及使细胞体积变小来维持。在水分胁迫下渗透势的变化和渗透调节作用，是一种适应性反应。自从采用压力室技术和PV曲线方法测定水势、渗透势和压力势后，对渗透调节的研究取得了很大进展，尔后，热电偶温度计和细胞压力探针的应用更使该领域的研究日益深入。脯氨酸是一种细胞相容性的渗透调节物质，对于液泡中主要渗透物质钾的积累来说，脯氨酸起细胞质渗透平衡的作用。脯氨酸可作为脱水胁迫、高温胁迫时各种酶的保护剂。脯氨酸很可能起保护膜不受高温破坏的作用。脯氨酸的这一作用也在抗旱性上得到证明(表19-4)。

植物激素，特别是ABA，对抗旱性有较大影响。表19-5总结了ABA的生理效应与植物抗旱性的关系。在水分胁迫时叶片ABA含量增加，从而导致气孔关闭。在有些研究报道中，研究ABA积累所用的抗旱性定义很含糊，另一些研究则取得了关于胁迫条件下ABA积累与产量之间呈正相关的结果，如小麦。但这一结果与ABA引起小麦小花不育相矛盾。另外，比较两个玉米杂交种发现，积累较多ABA的杂交种光合速率较高，在叶水势一定时这个杂交种的叶片透气性较低。所以将ABA含量用作选择指标时要对其与抗旱性的关系做进一步的研究。由根部产生再转运到茎的激素一致被认为在根与茎之间起通讯作用。试验表明，加到蒸腾流中的示踪物常在表皮壁中沉积，说明蒸腾流中的ABA能够直接转移到保卫细胞质膜的作用部位。如果此时叶片膨压没有降低，存在于叶肉细胞和分隔于保卫细胞叶绿体内的ABA就不会由细胞内移到细胞外，而蒸腾流中的ABA可独立于它们起作用。因此，改变来自根的ABA合成和运输可以提供根部水分状况和气孔及其抗旱性之间的直接联系。

**表 19-4 脯氨酸含量对干旱引起小麦叶片细胞膜损伤的影响**

| 培养基 | 脯氨酸含量/(mg/g) | 干旱引起的损伤/% |
|---|---|---|
| 湿空气 | 1.5 | 63.9 |
| 水 | 1.2 | 70.1 |
| 2%~5%脯氨酸 | 46.1 | 23.7 |
| 5.0%脯氨酸 | 56.4 | 12.0 |
| 7.5%脯氨酸 | 65.0 | 1.9 |
| LSD($P<0.05$) | 4.8 | 8.2 |

注:将脯氨酸含量不同的小麦叶片放在脯氨酸溶液中在 100℃培养 24 小时,样本同时在密闭容器湿润空气中培养作为对照。利用电解质渗漏方法测定干旱引起的细胞膜损伤。

**表 19-5 与植物对干旱反应有关的 ABA 的生理效应**

| 效应 | 后果 |
|---|---|
| 气孔导性下降 | 减少失水,增加水分利用效率 |
| 抑制光合 | 生长发育和产量下降 |
| 增加根系的水分运输 | 增加吸水,但正在蒸腾的植物可能无效应,影响离子浓度和膜性质 |
| 影响同化物的分配 | 增加根/冠比,改变根系形态 |
| 降低叶片生长速率 | 降低蒸腾速率,细胞较小 |
| 叶形态学改变(角质层较厚,表皮毛状体较多,气孔数减少) | 减少失水 |
| 分蘖减少 | 同化物利用更有效<br>减少蒸腾面积 |
| 提早抽穗、开花 | 矮秆、提前灌浆有利于延长灌浆期 |
| 花粉不育 | 减少粒数和产量 |
| 影响谷粒灌浆 | 结果不一致 |

## 四、提高作物抗旱性的途径

### 1. 抗旱育种和抗旱栽培

不同的作物品种,由于生物学特性不同,抗旱性能也不同,因此,选育抗旱品种是发展旱作农业的重要措施。抗旱育种的第一步,是对大量的品种资源进行鉴定,既要筛选出抗旱性的材料,又要确定能评价杂交后代抗旱性的选择指标。品种资源的鉴定要广泛而深入,选出的亲本材料不仅要抗旱性强,同时还应明确抗旱性主要表现的形态特征和生理特性,从而加强后代选择的针对性。由于作物的抗旱性是数量遗传,因此从单交的后代中,很难选出有希望的材料,故应采用复交和回交。杂交后代处理时,选择综合性状好的单株或株系,选择标准可适当放宽,以免丢失抗旱基因。作物进入品系后才进行抗旱性鉴定,某些与抗旱性有关的特性,也可以在灌水条件下进行,如发根力、根冠比、叶片保水力、渗透调节等。

抗旱栽培的基本原则:一是尽可能使可利用的水被植物吸收、利用;二是提高水分利用效率;三是使供水和作物需水在季节上相适应,通过不同的栽培手段如增肥调水、间苗节水、地面覆盖等可使旱地作物抗旱力提高。

### 2. 抗旱锻炼

播种前对于萌动的种子予以干旱锻炼,可以提高抗旱能力。例如,将吸水 24 小时的种子在 20℃下萌动,然后令其风干,反复处理三次后播种。经过锻炼的植株,原生质的弹性、黏性及凝结温度均有提高。我国农民在玉米、棉花、谷子等作物的栽培中,早就采用"蹲苗"方法提高作物的抗旱性。所谓蹲苗是使作物苗期处于较少水分供应的条件下,起到促下(根系)控上(抑制地上)的作用。经过"蹲苗"的作物体内干物质积累较多,叶片保水能力强,从而提高了抗旱能力。但是"蹲苗"要适度,过分缺水会使营养器官生长受到严重抑制,进而影响以后的生殖生长。同时"蹲苗"要适时,过早,僵苗不发;过迟,植株的生长量不够,不利于产量的形成。

### 3. 矿质营养

磷钾肥均能提高作物的抗旱性。磷的主要作用是增加有机磷化合物的合成,促进原生质的合成和提高原生质胶体的水合度,增加抗旱能力。钾肥能改善作物的糖代谢,增加细胞的渗透浓度,保持气孔保卫细胞的紧张度,有利于气孔开张,有利于光合作用。钙能稳定生物膜的结构,提高原生质的黏度和弹性,在干旱条件下能维持原生质膜的透性。

**4. 使用抗蒸腾剂**

由于植物水分散失主要是通过叶片进行的，所以抗蒸腾剂都是针对叶片而言的。根据它们作用的方式和抑制蒸腾的机理不同，可分为四类物质。

（1）*薄膜性物质*　这类物质喷于作物叶面，形成单分子薄膜，以阻止水分的散失，对光合作用影响较小，如长链的醇类、蜡质、塑料乳剂，但其缺点是施后叶温略有增高。

（2）*反光剂*　这类物质喷后，能在叶片外表面形成一层反光介质，减少太阳辐射，降低叶温和叶片与大气之间的蒸汽压梯度，减少蒸腾失水。如高岭土、铝粉等。

（3）*气孔抑制剂*　如 ABA、$Na_2SO_4$、CCC（矮壮素）等喷洒到叶片后直接作用于气孔的保卫细胞刺激气孔关闭或开度减少，达到抗蒸腾的目的。

（4）*气孔阻塞剂*　这类物质喷洒叶面后，阻塞部分开放的气孔以抑制蒸腾，如脂肪醇等。

抗蒸腾剂是一类可降低失水的药物，所以也可起抗旱作用。如促进气孔关闭的物质醋酸苯汞、甲草胺等，但这类物质在不同程度上有毒副作用，使用受到了限制。ABA 是一种有效的激素型抗蒸腾剂，无毒害，但价格较昂贵。

**5. 利用化学药剂增强植物的抗旱性**

旱生植物在干旱来临前，喷施矮壮素（CCC）可起抗旱作用。CCC 处理可提高植物根冠比，增加细胞的保水能力，防止细胞脱水的损伤，为其后的代谢提供了适宜的水分环境。

# 第四节　植物的抗盐性

## 一、盐胁迫对植物的伤害

土壤盐分过多对植物造成的伤害作用称为盐害（salt injury）。盐害主要表现在以下几个方面。

**1. 渗透胁迫**

盐分胁迫与水分胁迫密切相关，两者都造成植物吸水困难，甚至引起植物体内水分外渗。植物在盐胁迫下降低生长，一般认为是生理干旱，这是由于土壤中高浓度的盐降低了土壤水势的结果。一般植物在土壤含盐量超过 0.2%～0.25%时，就引起盐分胁迫，植物生长异常，植株矮小，叶小暗绿，似干旱缺水状。

**2. 营养缺乏胁迫**

植物正常的生长发育需要一定量的各种矿质元素，当土壤中某些离子如 $Na^+$、$Cl^-$、$Mg^{2+}$、$SO_4^{2-}$ 等含量过高时，会引起另一些离子的缺乏，如 $K^+$、$NO_3^-$ 等，$Na^+$ 与 $K^+$ 的吸收存在着竞争作用，因此 $Na^+$ 的浓度增高，$K^+$ 的吸收减少。$Na^+$ 的增多还会引起 P 的缺乏。K、P 都是植物所必需的大量元素，缺乏后影响植物的生长发育，极度缺乏导致植物死亡。造成营养缺乏的另一个原因是因为高浓度的 $Na^+$ 抑制了 $Ca^{2+}$ 的吸收。$Ca^{2+}$ 是大量元素之一，具有维持细胞膜的选择透性，限制细胞内溶质外渗的作用，缺少后导致营养不良。

**3. 离子毒害作用**

土壤盐分过多，往往以一、两种离子为主，形成不平衡的土壤溶液而导致特殊离子的毒害作用，即单盐毒害作用。例如植物吸收 NaCl 时，对 $Cl^-$ 的吸收快于 $Na^+$，结果由于 $Cl^-$ 的积累而产生毒害作用。单盐毒害作用可以通过离子拮抗作用而消除，例如小麦用 1%NaCl 浸种，萌发率只有 8%，如果先用 1%$CaCl_2$ 浸种而后转移到 1%NaCl 内浸种，萌发率可达 90%。

**4. 生理代谢紊乱**

由于外界高浓度的盐分致使植物遭受水分胁迫和离子毒害，从而引起植物细胞原生质膜的透性增加，使细胞内部离子浓度与种类的比例改变，进而蛋白质的合成降低，分解加速，游离的氨基酸、酰

胺和氨含量上升，产生氨毒害和代谢失调。此外，盐分胁迫下植物的光合速率下降，这与蛋白质合成受破坏、叶绿素分解，叶绿体解体以及缺水引起气孔关闭等一系列活动有关。盐分过多可使小麦、棉花和大麦等作物的呼吸速率下降，细胞色素氧化酶和抗坏血酸氧化酶等活性下降，可使黄素蛋白活性提高。看来盐分过多影响光合和呼吸，影响碳水化合物，蛋白质和核酸代谢。因此盐害除了离子的直接毒害作用以外，还可产生次生的伤害作用。总之，盐胁迫对植物多方面的伤害最终表现为对植物生长发育的综合影响。图 19-6 表示盐胁迫对盐生植物与非盐生植物生长的影响。

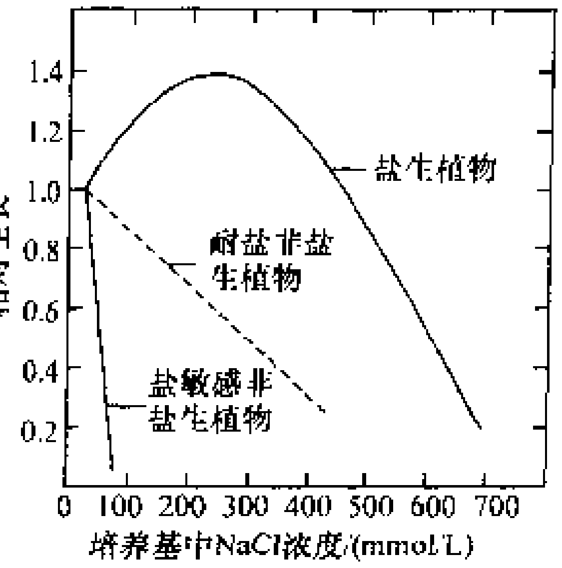



图 19-6　不同盐浓度对盐生植物、耐盐非盐生植物、对盐敏感非盐生植物生长的影响

## 二、盐胁迫机理

土壤中盐分对植物的伤害作用主要是通过盐离子本身的毒害作用(盐的原初作用)和盐离子所导致的渗透效应和营养效应(盐的次生作用)来起作用的。盐分胁迫的原初毒害作用可分为直接毒害作用和间接毒害作用，前者伤害细胞质膜，破坏质膜选择性透性；后者干扰植物各种代谢过程。盐分胁迫的次生作用，即渗透胁迫和营养亏缺。前者导致细胞吸水困难甚至细胞脱水，后者导致植物必需营养元素的不足，使植物产生饥饿症状。植物盐害的机理有以下几种学说。

### (一) 生理干旱学说

早在 100 多年以前，Schimper(1898)提出生理干旱(physiological drought)这个概念，用它来解释盐害的机理，认为在盐分胁迫下植物生长受到抑制的原因是植物水分亏缺造成的。植物水分亏缺的原因是因为土壤中含有大量可溶性盐，降低了土壤的渗透势，使植物根系吸水困难或者根本不能吸水造成的。这个学说大约盛行了 60 余年，直到 20 世纪 60 年代 Bernstein(1961，1963)和 Greenway 等(1962)才指出：大部分植物在盐渍条件下都能在渗透上适应并且保持水分流入植物体的梯度。另外，叶片对失水的抗性随外界盐度的增大而增大，这有助于根中克服对水分吸收所增大的阻力，在盐渍条件下生长的一些作物中不同程度地发现过这种现象。因此生理干旱不是盐伤害的本质。

### (二) 质膜伤害学说

盐分胁迫对植物的伤害作用主要是离子胁迫致使植物细胞质膜损伤，使其选择性遭到破坏，胞内大量离子和某些有机质外渗，外界有毒盐离子进入，结果导致细胞内的一系列生理生化过程受到干扰。

**1. 盐胁迫增加质膜的透性**

当外界盐浓度增大时，由于离子的胁迫作用使细胞膜功能发生改变，出现渗漏，细胞内电解质外渗。例如，用不同浓度 NaCl 和 $Na_2CO_3$ 处理玉米幼苗，根系电解质大量外渗，外渗量随外液浓度的增大和处理时间的延长而增加。NaCl 对盐生植物碱蓬和耐旱的非盐生植物牧豆树均能引起叶片电解质的渗漏效应，而且对牧豆树渗漏率的增加比碱蓬的要明显的多，碱蓬在约 2.0 MPa 的 NaCl 处理下才有较明显的电解质渗漏，而牧豆树在约 1.0 MPa NaCl 处理就有明显的增加，可见，膜透性的变化与植物的耐盐性有关。由于膜透性的变化进而影响细胞内的各种生理代谢过程，代谢过程的改变又会进一步作用于膜的结构功能。

**2. 盐胁迫与膜脂过氧化**

在盐生和非盐生、耐盐性强和耐盐性弱的不同品种中均发现随盐分胁迫促进膜脂过氧化作用，

MDA 含量增加，且这种增加与膜透性增加显著相关。说明在盐胁迫下，膜脂过氧化作用的增加是膜伤害的一个重要原因。在 MDA 含量增加的同时，体内 SOD 活性明显下降，且非盐生植物和耐盐弱的品种 SOD 下降的幅度更大。外源用自由基清除剂 $V_E$、DPA(二苯胺)、SB(苯甲酸钠)处理不同程度地降低了 NaCl 和 PEG 所诱导的 MDA 含量。当用 SOD 抑制剂 DDTC(二乙基二硫氨基甲酸)处理可进一步降低 SOD 活性并提高 MDA 含量，因此可以认为 NaCl 和 PEG 胁迫所诱导的伤害原因之一是通过降低 SOD 活性，削弱清除自由基的能力，促进了膜脂过氧化作用，从而使膜的结构和功能破坏，导致代谢紊乱。

**3. 盐胁迫与膜脂组分**

Kuiper 在研究葡萄品种的抗盐性中发现，抗盐性与盐分吸收、运输和根茎组织中类脂化合物密切相关。组织中 MGDG 和 DGDG 的含量与耐盐性呈负相关，葡萄根茎组织中含 MGDG 量多的品种，吸收 $Cl^-$ 的能力强，同时对盐的敏感性也强，易受盐害。而根茎组织中 PC 和 PE 含量高的品种吸收 $Cl^-$ 的能力低，对盐的敏感性也低。Kuiper 又用一个模拟实验证实了这一点，用戊醇层代替生物膜，在醇层中加入 MGDG 时，便能增加 $Cl^-$ 的穿膜能力，而 PC 只能增加 $Na^+$ 与 $K^+$ 的交换，从这个模拟实验中也说明膜脂中磷脂和糖脂组分与盐离子进入细胞有关。Kuiper 还在大豆、棉花中发现，在培养液中加半乳糖脂，便能促进 $Cl^-$ 跨膜运转。Müller 等用 NaCl 处理大麦幼苗，发现叶绿体被膜、类囊体膜脂含量发生变化。当 NaCl 存在时，类囊体膜脂中 DGDG、MGDG 和 PC 含量下降，其中以 MGDG 下降最多，比对照降低 1/3。在叶绿体被膜中，MGDG 和 PGDG 含量也明显下降。当去除 NaCl 一天后，膜脂组分可以恢复到对照水平。因此，他们认为 MGDG 的降低是植物对盐分的一种适应，它对盐分进入植物体起阻抑作用。

## (三) 代谢影响学说

**1. 光合作用**

NaCl 对植物的光合作用有较大影响。有些植物在适当浓度的 NaCl 存在下，光合作用有所增加，如红花在 0.06mol/L NaCl 的范围内，随着 NaCl 浓度的增加，光合作用增强；萝卜、番茄在 NaCl 浓度为 25～50mmol/L 范围内，Hill 反应受到不同程度的刺激，随着 NaCl 浓度的升高，Hill 反应相应增强。但大多数情况下 NaCl 对光合作用起抑制作用，如用 0.1mol/L 以下的 NaCl 处理玉米，其光合速率随 NaCl 浓度的升高而降低。对叶绿体超微结构的观察证实 NaCl 处理引起叶绿体结构的明显变化，叶绿体基粒片层的最外层膨大；随着盐胁迫强度的加大，叶绿体被膜和内部片层结构受到严重损伤，基粒消失，内膜和外膜逐步瓦解，叶绿体从正常的椭圆形膨胀为球形。NaCl 对光合作用有关酶的影响也会明显降低光合作用。盐胁迫下 RuBP 羧化酶活性降低，RuBP 加氧酶活性则有不同程度的增加。因此，在 NaCl 存在下，对 RuBP 羧化-加氧酶的作用，使 RuBP 较多地形成光呼吸的最初底物——磷酸乙醇酸，而生成 $C_3$ 循环的底物——3-磷酸甘油酸的数量相应减少。此外，NaCl 对光呼吸过程中的磷酸乙醇酸磷酸脂酶、乙醇酸氧化酶、过氧化氢酶、转氨酶、丝氨酸羟甲基转移酶都有促进，从而使光呼吸加强。虽然光呼吸有其生理意义，但从能量的角度看，它把光合作用同化的碳水化合物又转变为 $CO_2$ 放出，这或许也是 NaCl 对高等植物生长不利的原因之一。

Cabbay 等人以蓝藻为材料研究发现，NaCl 可使光系统 II 受抑，暂时停止电子传递，进而引起碳同化的暂时停止。由于光合电子传递的受抑，光合磷酸化也受到相应的抑制。

关于盐胁迫引起光合作用下降的原因可以归纳为以下三种观点：一种观点认为 NaCl 引起光合作用的降低是由于 NaCl 引起叶绿体脱水，并降低了希尔反应和光合磷酸化，光系统 II 对 NaCl 更敏感。另一观点认为 NaCl 对光合作用的抑制主要是通过引起气孔关闭，减少了 $CO_2$ 进入植物体内，即气孔效应的抑制，同时，非气孔效应也发挥非常重要的作用，NaCl 使碳同化过程的有关酶活性受影响，使

光合途径有所改变，从而影响到光合作用。还有一种观点认为盐分对光合作用的抑制与植物叶片色素平衡失调有关，在盐渍环境中，盐分破坏了细胞中色素-蛋白质-类脂复合体的结合强度，并降低了叶绿素和其他色素的含量。

**2. 呼吸作用**

盐胁迫增强了呼吸作用，将盐泽螺旋藻细胞体外培养于新鲜海水加上 1 mol/L NaCl 的介质中，可诱导呼吸作用的增加，细胞呼吸速率的变化几乎与细胞内 $Na^+$、$Cl^-$ 离子浓度的变化趋势相一致。实验表明 $Na^+$、$Cl^-$ 的进入使系统的细胞色素氧化酶含量增加，盐分促进细胞色素氧化酶的合成，使呼吸作用的电子传递增强或活化。

**3. 盐胁迫与蛋白质、核酸代谢**

盐胁迫抑制大多数蛋白质的合成，促进蛋白质的分解。例如，用 200 mmol/L 的 NaCl 处理大麦根部 24 小时，$^{35}$S-Met 在蛋白质中的掺入量仅为对照的 35%。但在盐胁迫下也诱导新蛋白的产生，盐诱导产生的新蛋白约为总蛋白的 1%，不同抗盐性品种间蛋白的产生有差异。有人发现 NaCl 和 PEG 诱导烟草培养细胞有新多肽的产生，随后的工作陆续证实在玉米、大麦等植物中也有类似现象。对大麦根进行盐胁迫，出现新表达的四种蛋白，当把经盐胁迫处理后的材料转移到一般营养液中后新表达的蛋白逐渐消失。将大麦根进行盐胁迫处理后，在耐盐性和盐敏感的两个不同品种的茎组织中也出现不同蛋白。Singh 等发现将培养的烟草细胞经 NaCl 和 ABA 处理可诱导一种新蛋白质，命名为渗调蛋白(osmotin)。一般情况下，NaCl 对核酸代谢的影响与植物品种和盐胁迫的时间、浓度有关，如果胁迫的程度大、时间长，会引起 DNA 和 RNA 含量的下降。

**4. 盐胁迫与脯氨酸、甜菜碱代谢**

许多植物在经盐胁迫处理后下组织中大量积累游离脯氨酸(图 19-7)，可能的原因包括：①NaCl 可阻止脯氨酸氧化酶的活性，而脯氨酸合成酶——吡咯-5-羧酸还原酶对 NaCl 有一定的抗性，所以在一定的盐胁迫下，会导致细胞脯氨酸的积累；②在 NaCl 影响下，线粒体膜透性发生改变，使得脯氨酸不易透过线粒体膜，而吡咯-5-羧酸能自由穿过，使得位于线粒体中的脯氨酸氧化酶与被其分解的底物脯氨酸形成空间上的隔离，分解就受到抑制；而吡咯-5-羧酸可以由线粒体进入到细胞质中，前体的增多，导致细胞质中脯氨酸的增加；③在盐胁迫下，ABA、细胞膨压丧失或水势降低均可分别诱导脯氨酸的积累。脯氨酸作为细胞渗透调节物质而大量积累，对于植物适应由高盐浓度而造成的渗透胁迫有重要意义。

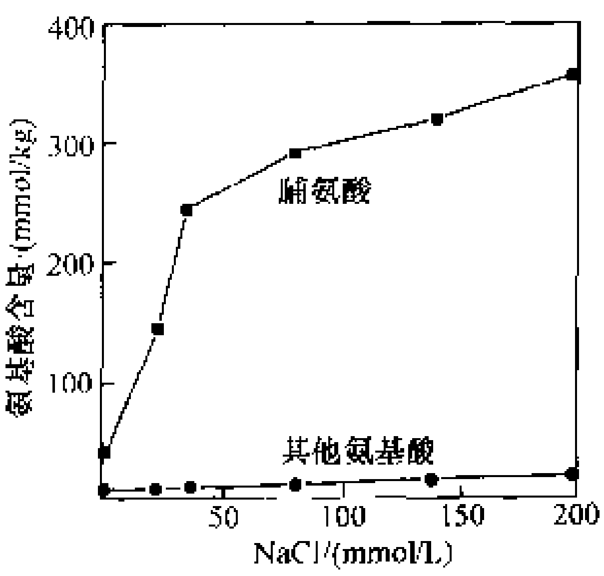



图 19-7 不同盐浓度处理条件下海韭菜(*Triglochin maritima*)茎组织中脯氨酸积累情况及与其他氨基酸含量变化情况的比较

甜菜碱与脯氨酸一样在植物细胞的渗透调节中具有重要作用。主要作用是平衡细胞内高浓度的盐分，以避免细胞质脱水。在盐胁迫下，植物体内甜菜碱积累，其含量随外界 NaCl 浓度增加而增加。与水分胁迫相比，盐胁迫刺激甜菜碱积累更有效。甜菜碱的合成前体——丝氨酸、甘氨酸是光呼吸的中间产物，所以甜菜碱的合成与光呼吸有关。盐胁迫促进光呼吸，从而也相应地加速甜菜碱的合成，甜菜碱能有效地调节渗透平衡。

**5. 盐胁迫与激素的变化**

盐胁迫常常可以引起植物体内 ABA 水平迅速升高，并可长时间维持较高水平。有人推测 ABA 的升高可能参与调节离子和水分的运输以及调控气孔行为以提高耐盐性。在番茄和葡萄中也证实 NaCl 增加了 ABA 水平并与气孔的调节有关。一些早期的研究发现，渗透胁迫也降低 CTK 类物质的活性，用 NaCl 或甘露醇处理，CTK 类物质活性的降低与渗透的浓度成正比。

## 三、植物的抗盐性

植物有两种基本抗盐方式：一是逃避盐害；二是忍耐盐害。

### （一）逃避盐害

不同的植物逃避盐害的生理机制或方式不同，但都是通过降低盐类在体内积累来避免盐害的发生。

**1. 泌盐植物**

植物吸收了盐分并不在体内积累，而是通过盐腺又主动排到茎叶表面，然后冲刷脱落，具有这种功能的植物称为泌盐植物(图 19-8)。泌盐是盐生植物逃避盐害的普遍形式，一般农作物也有类似的方式，通过泌盐提高抗盐能力。

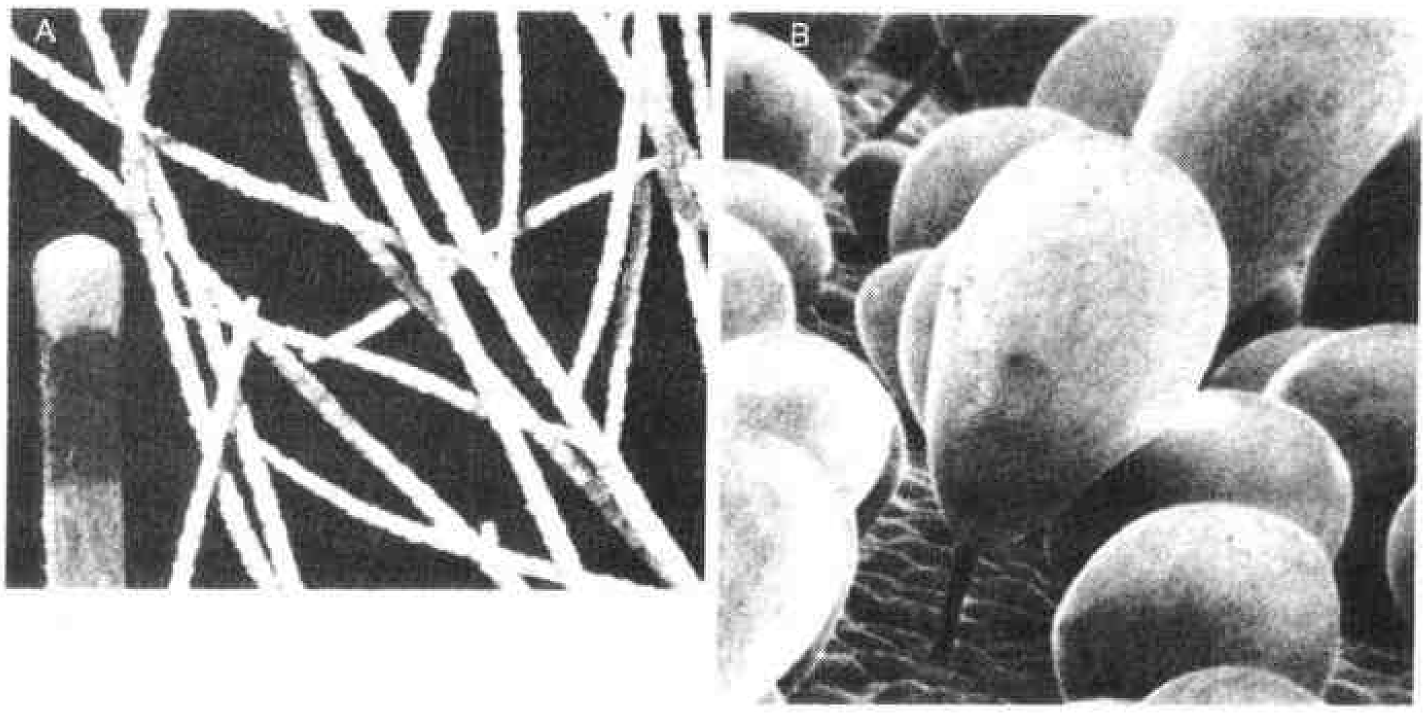



图 19-8 植物的泌盐现象

A．五蕊柽柳(*Tamarix pentandra*)叶子的泌盐现象；B．滨藜(*Atriplex spongiosa*)叶表面的泌盐腺体。

**2. 稀盐植物**

有些植物通过增加吸水与加快生长速率把吸进的盐类稀释，以冲淡细胞内的盐分浓度，具有这种功能的植物称为稀盐植物。如非盐生植物大麦生长在轻度盐渍土壤中，拔节前细胞内盐分浓度较高，但随拔节快速生长盐分浓度降低，在一些抗盐品种中都具有这种特点。近年来采用植物激素促进植物生长来提高抗盐性具有显著效果。

**3. 聚盐植物**

通过细胞内的区域化使盐分集中于细胞内的某一区域，从而降低细胞质中的盐离子，避免盐害，具有这种功能的植物称为聚盐植物。如肉质植物将盐分排到液泡中，使细胞的渗透压增加，提高吸收水分和养分的能力。

**4. 拒盐植物**

植物细胞的原生质对盐分进入细胞的通透性很小，在环境介质中盐类浓度较高时，能保持对离子的选择性透性而避免盐害，具有这种功能的植物称为拒盐植物。如有些抗盐性较强的植物表现出较严格的对钾与钠的选择性吸收，即有选择地吸收钾，但却排拒同是一价阳离子的钠。

### （二）忍耐盐害

耐盐是植物通过自身的生理或代谢的适应，忍受已进入细胞的盐类，这种方式无论是对盐生植物

或非盐生植物的抗盐能力都具有非常重要的意义。在盐渍条件下，盐生和非盐生植物都要受到渗透胁迫的伤害，而它们耐盐的重要对策之一是渗透调节。参与渗诱调节的物质，在盐生植物中主要是无机盐离子，而在非盐生植物中主要为脯氨酸、甜菜碱及一些糖类和有机酸。

## （三）植物适应盐胁迫的生理及分子机制

植物对渗透胁迫和离子毒害的耐性往往相互排斥。吸盐型植物有利于缓解渗透胁迫，盐分作为渗透溶质可以减少能耗，但容易破坏细胞内的离子平衡，引起离子毒害和必需元素的缺乏。拒盐型植物有利于避免离子毒害，但容易导致渗透胁迫对细胞的伤害。许多盐生植物是吸盐型植物，进入植物体内的盐分通过区隔化分配，积累于液泡中，细胞质中主要以小分子有机溶质如甜菜碱和脯氨酸等维持渗透势的平衡。非盐生的淡土植物多数为拒盐型植物，通过对盐分吸收的适度控制来维持地上部，特别是光合细胞中相对较低的盐分浓度。通常情况下，每种植物都不同程度地同时存在着上述两种机制。

**1. 拒盐机理**

降低地上部盐分浓度是植物耐盐的重要机理之一。耐盐水稻品种叶片中钾、钠离子总量较低，钾/钠比值却较高，耐盐小麦品种叶片钾/钠比值高与钾向地上部选择性运输较强有关。耐盐大麦叶片 $Na^+$、$Cl^-$ 含量低的原因主要是根系对 $Cl^-$ 的吸收较低，而所吸收的 $Na^+$ 留存于根中较多，向地上部运输较少。在中等盐度下红花菜豆和大豆茎基含钠量显著高于叶片。耐盐芦苇最明显的特点是限制 $Na^+$ 向地上部运输，即使在 0.5 mol/L 的 NaCl 盐度下，其叶渗透溶质也主要是 $K^+$、$Cl^-$ 和蔗糖，$Na^+$ 还不到 10%。盐溶液中加入硅或 PEG 明显降低 $Na^+$ 在地上部的积累，改善盐胁迫下植物的生长。

(1)*根系对离子的选择吸收和排盐*　根系是 $Na^+$、$Cl^-$ 等离子进入植物体内的主要屏障。由于内皮层凯氏带木栓化，阻止了离子在质外体的运输。离子在共质体中运输受表皮、皮层或内皮层细胞质膜的控制。由于植物根系对离子的选择吸收，共质体中 $K^+$ 浓度可比质外体或土壤溶液中高 50～200 倍。质膜 $H^+$-ATPase 活性、阳离子通道对不同离子的透性，耗能 $K^+/H^+$ 共运输以及 $Na^+/H^+$ 逆向运输等过程决定植物根系对离子的选择性。质膜 $H^+$-ATPase 的主要功能是驱动质子排出质膜，建立跨膜 pH 梯度和电势差，即质子驱动力（$\Delta\mu H^+$），为溶质的跨膜运输提供动力。NaCl 可以调节编码质膜 ATPase 的基因表达，而且在盐生植物体内的反应更快。盐胁迫下植物细胞中由于 $Na^+$ 积累，细胞质酸化，促进质膜 ATPase 活性。$K^+$ 通道对 $K^+$、$Na^+$ 的不同通透性是植物在盐胁迫下选择性吸收 $K^+$ 的主要原因。

(2)*木质部液流中的 $Na^+$ 被重新吸收*　通过对不同根段渗出液的浓度分析，Na 放射自显影和 X 射线微量分析，发现红花菜豆根的近基区域含 Na 量大大高于根尖和叶片。然而，这一区域木质部液流中 $Na^+/K^+$ 比只有 0.8，木质部薄壁细胞中的 $Na^+/K^+$ 却高达 32，显然，木质部液流中的 $Na^+$ 被薄壁细胞重新吸收并大量积累。玉米根系在盐胁迫下木质部薄壁细胞中也有 $Na^+$ 积累。用 12.5～37.5mmol/L NaCl 通过抽气法引入大豆离体根的中柱中，发现木质部液流中 $Na^+$ 浓度约为灌注液的一半，另一半在木质部液流向上运输过程中被薄壁细胞重新吸收，但被重新吸收的 $Na^+$ 不像菜豆和玉米那样积累于薄壁细胞，而是排入根中。$Na^+$ 被木质部薄壁细胞重新吸收通过质膜上的 $Na^+/K^+$ 交换进行。

(3)*通过韧皮部向下运输*　在中等盐度下，白羽扇豆和蓖麻的茎和叶柄中韧皮部汁液的 $Na^+$ 浓度显著高于木质部，而且茎基韧皮部 $Na^+$ 含量最高。用同位素 Na 比较了盐胁迫下耐盐芦苇和盐敏感水稻植株对 $Na^+$ 吸收和运输的特点，发现芦苇地上部所含的 Na 66%向根部下运。且茎基木质部液流中的 $Na^+$ 可横向运输至韧皮部，并与地上部下运的 $Na^+$ 一同向下运至根部。水稻地上部 $Na^+$ 的下运量较之少得多，所以地上部 $Na^+$ 含量为芦苇的 3.6～4.5 倍。

**2. 盐分区域化**

液泡能贮存营养和代谢产物，避免有毒溶质对细胞质的伤害，大大提高细胞质表面积与体积之比，有利于细胞与环境间的物质交换。液泡在细胞能量利用、信号传导、膨压调节和耐盐性中起着重要作用。盐生植物和较耐盐淡土植物细胞所吸收的 $Na^+$、$Cl^-$ 主要分布于液泡中作为渗透剂。苜蓿悬浮培养细胞液泡中 $Na^+$、$Cl^-$ 分别占原生质体 $Na^+$、$Cl^-$ 总量的 73.8%～91.2%和 74.0%～89.4%。盐分积累于液泡中是维持细胞质中高 $K^+/Na^+$ 比值的最有效途径之一。

(1)*液泡膜* $H^+$*-ATPase*　液泡膜 $H^+$-ATPase 的分子质量为 400～650 kDa，由 7～10 个亚基组成，分为亲水的 $V_1$ 亚基组和疏水的 $V_0$ 亚基组。$V_1$ 部分由定位于液泡膜的胞质侧的 5～6 个外周亚基组成，如 70 kDa 的 α 亚基和 60 kDa 的 β 亚基，都具有保守的核苷酸结合微区，分别为催化亚基和调节亚基，类似于 F-ATPase 的 α 和 β 亚基。编码这些亚基的 cDNA 已从高等植物中克隆。$V_0$ 部分为 3～4 个疏水的蛋白质亚基组成，整合于膜中，主要是分子质量为 16 kDa *c* 亚基，起质子通道的作用，也是 $V_1$ 亚基聚合和装配的基点。液泡膜 $H^+$-ATPase 约占液泡膜蛋白的 6%～8%，最高可达 30%。该酶的最适 pH 约为 7.2，可被 $Cl^-$ 等阴离子所激活。盐适应烟草细胞和大麦根经盐处理后跨液泡膜质子运输的比活性增加。在 100～200 mmol/L 的 NaCl 介质中，大麦根细胞液泡膜质子运输的比活性增加 2 倍以上。

(2)*液泡膜焦磷酸酶*(TP-$H^+$-PPase)　液泡膜焦磷酸酶普遍存在于高等植物的液泡膜上，依赖水解 PPi，将细胞质 $H^+$ 传递到液泡内。该酶的分子质量为 64.5～73kDa，最适 pH 为 7.5～8.5，酶所结合的底物为 MgPPi，可被阳离子激活，而对阴离子不敏感。阳离子激活效应的顺序为 $K^+=Rb^+=NH_4^+>Cs^+\gg Na^+>Li^+$，但 $F^-$ 和 $Ca^{2+}$ 抑制该酶活性。盐胁迫下绿豆根系细胞质中 $Na^+$ 浓度增加，$K^+$ 浓度下降，将抑制 TP-$H^+$-PPase 活性，使胞质酸化，液泡碱化。$Ca^{2+}$ 阻止绿豆根细胞中 $Na^+$ 的增高，可缓解 PPase 活性的下降，亦降低液泡的碱化。

(3)*液泡膜* $Na^+/H^+$ *反向运输*　依赖液泡膜质子泵所产生的质子驱动力，通过 $Na^+/H^+$ 反向运输，把胞质 $Na^+$ 泵入液泡，降低胞质 $Na^+$ 浓度，减轻 $Na^+$ 对酶类和膜系统的伤害，同时降低液泡渗透势，减轻细胞的渗透胁迫。$Na^+$ 在根系、茎基木质部薄壁细胞或叶鞘细胞的液泡中积累也可有效地降低 $Na^+$ 向地上部的运输，提高叶片的 $K^+/Na^+$ 比。液泡膜 $Na^+/H^+$ 反向运输是细胞盐分区隔化的基础，也是整株层次上盐分区域化分配的重要组成部分。$Na^+/H^+$ 反向运输体系是由一种分子质量为 170kDa 的膜蛋白组成，存在 3 种表现形式：第一种如中型车前草，本身不耐盐，在 NaCl 处理和对照植物中都不显示 $Na^+/H^+$ 反向运输活性；第二种如大麦和海滨车前草，在无盐条件下不能检测到 $Na^+/H^+$ 反向运输活性，只有在 NaCl 诱导下酶活性才显示出来；第三种如糖甜菜，在无盐下 $Na^+/H^+$ 反向运输活性较低，NaCl 处理下活性明显增加。大麦的这一盐活化效应很快，其原初信号可能是 $Na^+$。因为 $K^+$、$Cl^-$ 或渗透胁迫都不能活化 $Na^+/H^+$ 反向运输体系。

**3. 渗透调节作用**

渗透调节能力是植物耐盐的最基本特征之一。

(1)*参与渗透调节的主要有机渗调溶质*　外源脯氨酸可缓解生长于含 1%NaCl 培养基上的冰叶松叶菊愈伤组织细胞内 $Ca^{2+}$、$K^+$ 含量下降，并促进内源脯氨酸含量、组织干重和鲜重的增加。外源脯氨酸也促进水稻愈伤组织盐适应细胞在更高盐度下生长。脯氨酸积累与植物耐盐性似乎存在某种必然的关系。以转基因烟草植株研究表明，盐胁迫下脯氨酸过量型植株的根系长度增加 40%，根系干重、单株蒴果数及每个蒴果中的种子数都增加一倍左右。1975 年，Storey 和 Wyn Jones 最早观察到水分或盐渍胁迫下植物积累大量的甜菜碱。在研究过的 150 多种代谢物中，甜菜碱是最好的渗透调节剂。(参见本章第一节。)

(2)*渗透调节的诱导及其化学调控*　藻类植物渗透调节可以分成细胞膨压或体积变化和溶质

增加两个阶段。第一阶段只需几秒至几小时，第二阶段需几十分钟至几天。第一阶段的细胞体积或膨压改变作为胁迫信号，引起质膜质子泵活性增加及阳离子(如 $Ca^{2+}$)或阴离子(如 $Cl^-$)通道开放，改变细胞代谢过程，促进有机溶质积累。陆生植物的渗透调节可能也与壁压变化有关，并涉及质膜 $H^+$-ATPase活性的增加和胞液 pH 变化。盐刺激的有机溶质积累可能有三种方式，即酶的从头合成、酶活性控制与酶的降解。甜菜碱和脯氨酸的积累可能涉及酶的从头合成，而异赤藓糖(IF)的积累在于合成酶的激活。细胞受到高渗胁迫后一分钟内 IF 就开始合成，合成 IF 的关键酶——异赤藓糖磷酸合成酶(IFPS)预先存在于细胞中，但呈钝化状态。当细胞收缩时，膜脂成分与功能发生改变，$Ca^{2+}$/CaM复合体激活膜结合的丝氨酸蛋白酶，后者释放到胞液中，水解 IFPS 原，形成活化的 IFPS。IFPS 的活化程度大致与细胞收缩程度成正比，当细胞重新膨胀时，IFPS 又钝化。甘露糖醇的积累取决于代谢酶活性变化，合成甘露糖醇的关键酶——甘露糖醇-1-磷酸脱氢酶在高盐胁迫下活性增加，同时甘露糖醇降解酶——甘露糖醇脱氢酶活性下降。甘油合成与降解的两个关键酶——磷酸甘油磷酸酶和二羟丙酮激酶对底物的亲合性相差 1000 倍，且最适 pH 不同。盐胁迫下质膜 $H^+$-ATPase 活性上升，较多质子被泵出细胞，胞液 pH 上升，有利于甘油合成。解除盐胁迫后，胞液 pH 下降，甘油逐渐降解。

**4. 钙信使与植物的盐适应**

细胞质中 $Ca^{2+}$ 水平的调节是真核生物细胞功能调节的关键组分，是钙第二信使作用的基础。在生理浓度范围内，细胞质中游离 $Ca^{2+}$ 的浓度比液泡中低 4 个数量级。细胞质中 $Ca^{2+}$ 的主动运输依赖定位于质膜和内质网中高亲和的 $Ca^{2+}$-ATPase，以及定位于液泡膜中亲合力较低的 $Ca^{2+}/H^+$ 反向运输体系。在逆境或其他因素刺激下，细胞质游离 $Ca^{2+}$ 浓度一般表现为升高，其原因之一是细胞质膜去极化，质膜 $Ca^{2+}$ 通道被激活而开放、胞外钙通过钙通道进入细胞质的结果。液泡膜中的 $Ca^{2+}$ 通道有两种，一种是 $IP_3$ 门控的 $Ca^{2+}$ 通道($IP_3$-gated $Ca^{2+}$-channel)，另一种是电压门控的 $Ca^{2+}$ 通道(voltage-gated $Ca^{2+}$-channel)。$Ca^{2+}$ 与 CaM 和其他 $Ca^{2+}$ 结合蛋白(如钙依赖型蛋白激酶)结合，调节细胞代谢或基因表达，促进植物适应逆境。但如果细胞质长时间维持高浓度的 $Ca^{2+}$，将造成细胞的伤害。

## 四、提高植物抗盐性的途径

在作物生产实践中，已经有一些措施被用于提高作物的抗盐性，如在播种前将种子进行盐胁迫锻炼处理或在作物栽培过程中使用植物生长调节剂等。通过选育抗盐作物品种，特别是近年来兴起的利用分子育种技术培育抗盐品种，应是很有发展前景的领域。

**1. 种子处理**

植物对盐胁迫的适应性或抗盐性是在个体发育过程中形成的，因此利用植物幼龄期可塑性高、适应力强的特点，用一定浓度的盐溶液处理种子可提高其生长发育过程中的抗盐能力。如用 0.3%～0.4%NaCl 或 $CaCl_2$ 浸种，可显著增加植物的抗盐性。

**2. 激素处理**

植物通过自身的快速生长是很重要的抗盐机制之一，使用生长素类生长调节剂可以有效促进植物生长，使植物吸收大量的水分而避免体内盐分浓度的增加。利用喷施 ABA 以诱导气孔关闭，从而降低蒸腾作用和盐的被动吸收，也可以提高栽培作物的抗盐能力。有研究证明，外源 ABA 能显著降低地上部 $Na^+$ 含量，这一作用在高浓度盐处理条件下尤为明显。用 NaCl 处理小麦，体内 $Na^+$ 含量急增，$K^+$ 含量下降，$Na^+/K^+$ 比急剧上升，比对照高 10 倍，但同时施用 ABA 能显著降低植株地上部的 $Na^+/K^+$ 比。

**3. 选育抗盐作物品种**

不同作物或同一作物不同品种的抗(耐)盐性有很大差异，因此可以通过选择或培育抗盐品种而

提高栽培作物的抗盐性。利用传统育种的方法可以培育出有一定抗盐性的作物品种，但周期较长且偶然性较大，所培育的品种的抗盐性状也常不太稳定。利用细胞工程与基因工程的技术选育抗盐品种无疑为这方面研究开辟了广阔前景，特别是将现代生物技术与传统育种方法相结合的策略可能在将来的研究中最有希望获得成功(参见第二十章)。

## 第五节　植物的抗冷性与抗冻性

### 一、冷　　害

冷害是指在0℃以上的低温下植物受到的伤害。冷害包括两类情况：一类是起源于热带的喜温植物(如番茄、黄瓜、水稻等)在10～12℃以下温度时就会受到冷害；另一类是生长在温带的植物，如冬小麦幼苗能够抵抗寒冷的冻害，但在春天小孢子发育的四分体阶段及开花受精时期，0℃以上低温也能引起它们的冷害。

#### (一) 冷害对植物生理功能的影响

**1. 冷害对水和养分吸收的影响**

低温会引起细胞缺水的次级胁迫伤害。因为根系在低温下生长缓慢，活细胞原生质黏度增大，流动较慢，呼吸减弱，能量供应减少，限制了水分和养分的吸收，吸收的水分不足以补充蒸腾的消耗，最终使植物体缺水而干枯死亡。对冷敏感的植物比抗冷植物更易降低水分的吸收。

**2. 冷害对呼吸作用的影响**

低温引起对冷敏感植物的呼吸异常。很多植物在低温初期，呼吸强度增加，随低温时间的延长，呼吸下降。许多研究表明，低温引起的呼吸增强是伤害的开始，伤害症状出现后呼吸显著下降。这种低温引起呼吸增加的程度可以反映低温伤害的严重程度和冷敏感程度。耐冷性强的植物，低温不引起呼吸的增加，即使有所增加当回暖后也会很快恢复正常。低温初期呼吸的增加一方面可能是由于低温引起乙烯的产生，从而刺激了呼吸作用；另一方面，低温抑制有氧呼吸，而促进无氧呼吸。进一步研究发现，低温还引起氧化磷酸化解偶联，ATP形成受阻以及呼吸途径发生改变。

**3. 冷害对光合作用的影响**

低温引起光合强度的下降。例如，温度低于12℃时水稻叶片的光合强度明显低于25℃时的光合强度。低温也使植物叶片的光合产物向植株的其他部位的运输量减少。叶绿体对低温反应极其敏感。低温处理后，叶绿体类囊体片层结构排列紊乱，被膜内陷或破裂。低温也引起光合磷酸化丧失，光合电子传递率下降。低温使叶绿体的形成和叶绿素的合成速率受到抑制，叶绿素含量明显下降，幼嫩叶片就发生缺绿或黄化。低温使绿色组织的淀粉水解为可溶性糖，进而转化为花青素，由绿色变为紫红。春季低温伴随阴雨天气，更不利于进行光合作用，减弱了抗寒能力，所以湿冷比干冷危害更大。

**4. 冷害对原生质流动性的影响**

低温下细胞内原生质的流动性降低。对于冷敏感的植物在10～12℃下原生质的流动性就明显降低。这是因为原生质的流动需要消耗能量以及细胞膜维持完整性，低温不仅使植物体内ATP产生减少，而且也使细胞膜发生相变，原生质的流动性因而受到阻碍，导致正常代谢紊乱。

**5. 冷害对膜结构与功能的影响**

Lyons根据生物膜结构功能与抗冷性的关系提出的假说认为，低温冷害时，生物膜首先发生膜脂从液晶相向凝胶相的转变，膜脂的脂肪酸链由无序排列变为有序排列，膜的外型与厚度也发生变化，可使膜发生收缩，膜上会出现裂缝或孔道。因而膜的透性增大，膜内水溶性物质大量向膜外渗漏，破坏了细胞内的离子平衡，同时膜上结合酶活力降低，代谢失调。由于以上的一系列变化，表现出呼吸

作用下降，能量供应减少，植物体内积累有毒物质。在冷害程度达到膜脂发生降解时，就会发生组织受害死亡。研究表明，膜脂相变温度与膜脂的性质和组成有关，膜脂中不饱和脂肪酸含量是控制膜相变化的重要因素。

**6. 冷害对物质代谢的影响**

碳水化合物和蛋白质在低温下代谢的分解作用大于合成作用。低温可以使植物体内过氧化物酶和过氧化氢酶的活性提高。而6-磷酸葡萄糖脱氢酶、乳酸脱氢酶在低温下，稳定性明显降低。研究表明，低温对植物体内不同酶系统的影响是不同的。

**7. 冷害对植物激素的影响**

内源激素在植物抗逆性中起重要作用，其中对 ABA 的研究最多。已经知道的 ABA 与植物抗冷性的关系包括：①植物遭受低温期间，体内 ABA 含量增加；②外施 ABA 能减缓或防止植物的低温伤害，诱导其抗寒力的提高；③ABA 能提高与抗寒力相关蛋白质的合成。

总之，冷害首先伤害了细胞的膜结构，特别是首先降低了膜系统的流动性，导致质膜的 ATP 酶失活，使植物细胞对物质的主动吸收和运输能力降低，同时却使物质的被动转移和渗透性增加，即细胞内溶质外渗，水分散失，细胞失去膨压。这就使植物受冻害后，通常出现萎蔫现象。与此同时，细胞内的有氧呼吸降低，无氧呼吸增加，造成有毒物质如乙醇等的积累。由于光合作用降低，使植物发生饥饿。如果低温作用的时间不长，这个伤害是可逆的；如果低温冷害时间延长，植物会因为大量毒素的危害与饥饿，以及膜结构的生理生化过程不断遭到破坏而死亡。内源激素在植物抗逆性中起重要作用。

## （二）冷害机理

长期以来人们都以 Lyons 的膜脂相变假说作为冷害机理的解释。这一假说认为膜脂必须处于液晶相，膜才具有作为半透性屏障的作用，对冷敏感植物在降温到某一刻时，膜脂相变为凝胶相，膜的功能出现紊乱。根据这一假说，低温对植物细胞的伤害，首先是影响到膜脂相，但随着研究的深入，近来发现虽然冷敏感植物在低温下有明显的膜脂发生相变，但仅是一些小部分的脂类，并非大量的膜均发生相变。研究表明，膜成分不同对低温的敏感性就不同，Raison 等报道冷敏感植物 *Vibnaradrata* 的叶子中含有棕榈酰磷脂酰甘油二酯，而耐冷植物中不含此物质。而且从冷敏感植物和耐冷植物中提取的磷脂酰甘油二酯有明显的不同。甘油-P-酰基转移酶在冷敏感和耐冷植物中的选择性不同，有关这方面研究的深入可能为冷害机理提供一较完善的解释。此外，Palta 和 Li 对洋葱表皮细胞的研究指出，低温损伤首先是破坏了质膜上的由 ATP 酶参与的主动运输体系。对番茄幼苗在冷害后 ATP 酶活性的细胞学研究也揭示质膜 ATP 酶是低温损伤的初始部位，并对植物冷害机理提出新的见解：冷害首先是损伤细胞的膜结构，最初可能是改变膜上的功能性蛋白质，如 ATP 酶活性发生变化，然后引起生理生化过程的破坏，从而导致植物的伤害和死亡。低温一方面引起细胞表面质膜 ATP 酶活性降低或失活，使细胞对物质的主动吸收和运输功能降低，结果使植物体与周围环境的物质交换的平衡关系受到破坏。另一方面，低温激活细胞内部的一些细胞器上 ATP 酶的水解活性。这是一种保护性反应，即通过能量的释放来抵御低温的侵袭，但因此引起细胞内 ATP 含量的急剧减少，ATP 的缺乏导致生物合成速度的降低和停止。这两方面的结果使整个细胞生理生化过程遭到破坏。

# 二、冻　　害

冻害是指植物受到冰冻以下的低温胁迫，发生组织结冰而造成的伤害。由于植物细胞内所含的水分受细胞大分子的束缚，不易结冰，存在有过冷现象。过冷现象是指水或溶液的温度降至其冰点以下仍不结冰的现象。大多数组织在比其冰点低 1～2℃时才结冰，有些植物的某些组织有深过冷现象，

过冷温度可降至$-15℃$以下，有的甚至达$-40℃$以下。温度低于过冷点，组织就会立即结冰，过冷点温度越高，结冰越快，往往形成胞内结冰；过冷点低，结冰缓慢，常形成胞外结冰。

细胞外结冰是在细胞间隙及细胞壁附近的水结冰。细胞壁上由于有许多壁孔，其中含有的水极易过冷而不结冰。胞外开始结冰以后，由于冰表面水势下降，胞内水分便可通过半透性的细胞膜而扩散到细胞间隙，在细胞间隙结冰，使冰晶逐渐扩大。此时没有结冰的细胞由于脱水而收缩，整个组织的主要部分由充满了冰的细胞间隙组成。

一般来说，温度逐渐下降至冰点以下，细胞外先结冰，由于结冰放热和细胞脱水浓缩，造成不利细胞内结冰的条件，因此可避免胞内结冰。但抗寒性弱的细胞，质膜在低温下对水的透性小，水分到胞外结冰的量少、热的释放少，当温度下降快时，水分来不及透出细胞而在细胞内形成冰晶。另外，由于温度的急剧下降，细胞很易从过冷态发展为胞内结冰。胞内结冰一般先在原生质后至液泡内的水结冰。胞内结冰造成直接的损伤，冰晶体形成及融化时对生物膜、细胞器和衬质结构产生破坏性作用。

胞外结冰也会对细胞产生不同的伤害，例如，由于胞外结冰造成细胞收缩，细胞间隙冰晶膨大，膨大的冰体对细胞产生压力导致冰压伤害；胞外结冰、细胞间隙的空气被排空、细胞进行无氧呼吸，长时间后会产生冰冻窒息伤害；由于冰的升华，冰冻造成干燥症状；由于胞外结冰引起细胞脱水而造成冰冻脱水伤害；其中冰冻脱水胁迫是自然界中高等植物冻害的主要类型。胞外结冰造成细胞脱水可从两方面作用于细胞：一是使细胞内溶液浓度升高，特别是盐的浓度增高，由此引起 pH 下降，从而造成盐胁迫或酸胁迫的伤害；另一方面是由于脱水面发生细胞塌陷，使胞壁和原生质承受机械胁变，也会造成伤害。

## （一）冻害对植物生理功能的影响

**1. 冻害对光合作用的影响**

零度以下低温抑制光合作用，因为冰冻首先对叶绿体结构有显著影响。最先用菠菜叶绿体实验时发现，冰冻破坏了叶绿体的膜结构，然后导致光合磷酸化酶的失活。进一步的研究发现，冻害使叶绿体膜发生三种破坏：①使偶联因子($CF_1$)从类囊体的外表面解离下来；②使叶绿素从膜上解离下来；③破坏了膜的通透性。偶联因子 $CF_1$ 的主要成分是 ATP 酶，其作用主要是光合磷酸化的部位，$CF_1$ 在光能下能催化 ATP 合成的最后步骤，$CF_1$ 的解离使光合磷酸化解偶联，抑制 ATP 的产生。冰冻使 Rubisco 的羧化作用和 RuBP 再生能力减弱，$CO_2$ 的同化速率受抑。

**2. 冻害对呼吸作用的影响**

线粒体膜对低温寒冷的稳定性要高于叶绿体膜。例如，雀麦草在 0℃时，叶绿体的片层排列方向发生改变，类囊体膨胀产生空泡，而线粒体仍保持正常。当继续低温使叶绿体解体时，线粒体内膜嵴才开始表现出有所破坏，但并没解体。随着低温寒冷时间的延长，线粒体活性降低，在甘薯块根中发现受冻害后线粒体活性的降低和丧失是由于细胞色素 C 从线粒体膜上解离的结果。冰冻对糖酵解活性的降低比对磷酸戊糖途径的降低要多，电子传递途径转变为抗氰途径，这种途径的改变对低温下植物体内开辟能量流起重要作用。

**3. 冻害对生物膜结构与功能的影响**

关于冻害对膜的影响机制，不同的实验有不同的结论。有人用洋葱表皮细胞和马铃薯叶肉细胞为材料发现，细胞结冰受冻害时首先是大量电解质和非电解质物质向胞外渗漏。但 Palta 等认为结冰并没有伤害质膜对 $K^+$ 的透性。可是 $K^+$ 和糖类物质向细胞外渗漏必须通过质膜，因此推测质膜上的 ATP 酶和糖的主动运输酶的失活，可能是结冰伤害的原初反应部位，并提出结冰膜伤害假说。认为在胞间结冰时会同时产生脱水、机械和渗透三种胁迫伤害，结果使膜脂-蛋白质间的相互作用改变，膜蛋白变性，膜功能的变化使得膜上与 $K^+$ 和糖类物质运输有关的酶系统失活，胞内的 $K^+$ 和糖类物质向

胞外渗漏；与此同时结冰使叶绿体和线粒体的氧化磷酸化解偶联，减少了能量供应，也能使 $K^+$ 和糖类物质主动运输酶系统失活。$K^+$ 外渗时与对膜稳定性起重要作用的 $Ca^{2+}$ 发生置换，进一步降低了膜的稳定性，加速了膜的损伤。融冰解冻后大量水分又被植物吸入细胞，胞内外充满水分而形成了缺氧的微环境，最后因缺少能量而使细胞死亡。

Yoshida 等的研究发现结冰能够影响膜脂组分。在－10℃下结冰 1 小时，PC 降解，3 小时后 PE 也降解。在－30℃下结冰，80％的 PC 和 PE 发生降解。磷脂的降解随温度降低而加速。经低温锻炼后，在－30℃的低温下，PC 和 PE 都不发生降解。磷脂的降解原因与磷脂酶的活力有关。抗冻性强的材料在结冰时磷脂酶 D 的活力低，不抗冻的植物在结冰温度下磷脂酶 D 的活力高。由于磷脂酶 D 的活力增大，膜磷脂发生降解而使膜受害。

## （二）冻害机理

细胞冻害发生在四个不同时期：①正在结冰过程中受害；②结冰达到平衡之后受害；③在解冻过程中受害；④解冻之后受害。

**1. 结冰过程中及结冰达到平衡之后的冻害**

（1）胞内结冰冻害　　胞内结冰会造成原生质结构的机械损伤，细胞受害。根据近年研究，如果胞内结冰的速度非常快，形成的冰晶非常细小，不会伤害原生质。

（2）胞外结冰冻害　　胞外结冰所造成的伤害是由于冷冻超出了植物所能忍耐脱水的低温限度和冰冻时间过长。

**2. 解冻及解冻之后的冻害**

（1）膜损伤的可逆性　　植物在结冰后，放在 0～5℃下经过 24 小时的解冻恢复和直接放在室温下，或立即转移到高温下解冻的伤害程度不同。一般是受冻层仍活着的细胞，放在 0～5℃下解冻可以恢复，而在高温下就会死亡。受冻害的植物在 0～5℃下解冻恢复能力大，而在室温下恢复能力小，受害程度大。这主要是因为温度差别大影响细胞恢复能力，可能也有别的原因。

（2）细胞膜的半透性　　冻害的通常特征是水分渗入细胞间隙，表现出水渍状，并丧失了细胞的紧张度和膨压。冻害引起离子外渗和水分外渗，都是由于细胞膜半透性受到破坏。实验结果指出，在冻害的开始阶段，细胞的半透性保持完整。这可能是内在的膜蛋白部分受害，而不是在类脂部分。

# 三、植物抗冷性与抗冻性机理

## （一）抗冷机理

在自然条件下由于秋季气温的逐渐降低诱导了抗冷锻炼和抗冻能力，此外，短日照对抗冷力的增强起一定作用。在植物的抗冷锻炼中细胞中的酶活性和代谢途径有所改变以及糖、氨基酸、核酸、蛋白质和磷脂浓度有所增加，这些复杂的变化使得细胞的代谢和膜结构能经受 0℃以上的低温。

**1. 脂类**

冷锻炼诱导了质膜上的脂类发生变化。例如，冷锻炼后增加了磷脂和游离甾醇，减少了甾醇糖苷、酰基甾醇糖苷和葡萄糖苷脂酶，冷锻炼并没引起脂类种类上的变化。脂类的改变增强了膜在低温下的稳定性。例如在低温期间防止脂类由双层片状向六方晶体状的转变。

**2. 蛋白质**

在多种植物中发现，低温锻炼期间有蛋白质的合成。在许多植物的观察中发现可溶性蛋白质含量的增加与抗冷力的提高直接相关。Weiser 最先提出植物抗寒锻炼中基因表达发生改变，从而合成了新的蛋白质，其中包括参与抗寒锻炼代谢的一系列酶。

**3. 核酸和核糖体**

在低温锻炼过程中有核酸的代谢，已证明总 RNA、rRNA 和 mRNA 含量有所增加。有报道冬小麦在低温锻炼期间，RNA 聚合酶 I 活性增加，rRNA 含量也增加，随后 RNA 聚合酶 II 活性也稍有增加，在相同处理的春小麦中并不存在这种变化，可见这种变化与低温有关。核糖体的结构、多聚核糖体的组成以及大小在低温锻炼期都发生改变，这些变化使转录系统在低温下更稳定。

## （二）抗冻机理

**1. 植物的抗冻方式**

不同的植物对冷冻结冰的抗性不同。Levitt 等把植物的抗冻性分为 6 种方式：① 避结冰温度；② 缺少可冻水；③ 过冷态；④ 避胞内结冰；⑤ 避结冰脱水；⑥ 耐结冰脱水。

避结冰温度是某些植物的某些器官在某种状态下所采取的抗冻方式，如通过呼吸放热使自身温度暂时高于环境或通过结冰放热在短时间内维持体温高于空气或通过外部组织的隔离保护使内部组织避免结冻，这种抗冻方式是暂时性的。

缺少可冻水，这是那些能忍耐极度脱水胁迫的器官才具有的抗冻方式。如种子和经过秋季抗寒锻炼后的休眠芽，不含可冻水，因此在低温下也不结冰。

过冷态是生长在热带地区的一些植物所具有的抗冻方式。中度和轻度的过冷对一些其他植物也具有积极作用。如马铃薯叶片具有过冷能力，温度降至−6℃时仍不结冰。

抗寒性较强植物的抗冻多采取的是避免细胞内结冰、避免脱水胁变和忍耐脱水胁变的方式。要避免胞内结冰，必须使冰晶在细胞间隙形成，随着温度继续下降，胞内的水分能不断移至胞外，以保持细胞内不结冰。要维持胞内水分能迅速移至胞外，细胞需有较大的比表面积，而且细胞膜具有较高的透水性，这样水分能尽快透过膜到达细胞间隙。此外，细胞具有较高的溶质含量也使胞内不易结冰。

细胞外结冰造成的伤害主要是由于冰冻脱水引起的次生水分胁迫，植物抗冻能力大，细胞必须具有避免或忍耐脱水胁变的能力，这是抗冻植物耐冻的首要因子，细胞膜体系的稳定性与植物忍耐脱水胁变的能力成正相关。

**2. 抗冻机理**

多数植物抗冻性的提高来自两方面的变化：细胞膜体系稳定性的提高和避免细胞内结冰。增加膜结构的稳定性是提高植物抗冻性的关键。对小麦越冬过程中进行细胞学研究发现，小麦细胞器和膜结构的稳定性与麦苗的冻害和抗冻性有密切关系，膜结构的稳定性随着抗寒锻炼的进行而增强。

(1) *质膜膜脂的变化*　冬小麦在低温锻炼前，细胞质膜紧贴细胞壁，其表面光滑，与细胞壁相平行。经低温锻炼后质膜与细胞壁发生一定程度的分离，在质膜与细胞壁之间形成一定距离的空隙。在这些空隙中可以清楚地看到质膜表面分布有黑色的嗜锇颗粒。这种嗜锇颗粒的大小与质壁分离的程度有关。质壁分离程度大，嗜锇颗粒也随之变大。当质膜收缩时，膜内的部分脂质分子从膜内释放出来。这种膜脂的释放是由于寒冷过程中细胞脱水而引起的原生质体收缩，质膜表面积缩小，膜脂被挤压而发生的位移，在质膜表面发生聚集而形成嗜锇颗粒。

(2) *质膜糖蛋白的变化*　抗寒性强的冬小麦，其质膜上的糖蛋白在抗寒锻炼前是颗粒状分布于质膜上，而锻炼后为分散状分布于质膜中。抗寒性弱的品种，锻炼后仍然是颗粒状分布。脱锻炼后，抗寒性强的品种质膜上的糖蛋白又恢复到锻炼前的颗粒状分布。抗寒性强的冬小麦幼苗叶片细胞表面的糖蛋白比不抗寒的春小麦品种显得丰富，并且在低温锻炼中，前者细胞表面的糖蛋白层有增厚的趋势，而后者的糖蛋白层明显变薄，甚至完全消失。这种膜脂和膜蛋白分布上的变化，有可能导致膜脂和膜蛋白相互关系的改变，并从而改变质膜的特性和功能，有利于维持膜的稳定性。这方面的研究还发现，周质细胞骨架是稳定质膜的一个重要因素，抗寒锻炼和 ABA 处理可通过稳定周质微管骨架

的作用，而提高质膜的稳定性。抗寒锻炼和ABA处理，都能提高植物细胞内保护酶系统——超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶的活性，增加保护物质—抗坏血酸和谷胱甘肽的含量，以清除细胞在低温逆境中超氧物自由基的增加，防止膜脂的过氧化，保证膜结构的稳定性。

(3)*避免细胞内结冰*　避免细胞内结冰必须具有以下特征：细胞有特异性的膜表面结构、细胞对水分的高度渗透性、及细胞水分流向胞外结冰。

植物避免细胞内结冰以细胞外结冰和细胞液过冷却两种方式为最主要和最普遍。细胞外结冰是指细胞内的水流到细胞外结冰，因为细胞外的水溶液的溶质浓度低，冰点较高，当温度降低时，细胞外的水溶液先结冰，水势降低从而使细胞内的水不断移向细胞外，胞外冰晶不断增大。Levitt和Scath早在20世纪30年代的研究就指出，经过抗寒锻炼的植物细胞能将细胞内的水更快地排到细胞外结冰。但为什么抗寒锻炼后的植物细胞内的水能更快排到细胞外结冰、机制如何，还了解不多。可能与质膜的内陷变曲，增加表面积有关。

(4)*增加过冷却能力*　有关形成过冷却的机制至今了解不多。在柑橘和小麦抗寒锻炼中观察到液泡的内吞作用，将细胞质物质转移到液胞内，使液泡中增加了蛋白质和RNA等大分子物质。抗寒锻炼中产生的液泡内吞作用可能是造成液泡液深度过冷却的重要原因。草本植物和木本植物的抗寒途径不完全相同。草本植物主要是通过细胞外结冰的途径。抗寒的草本植物细胞膜对水分具有较高的透性，当温度降到冰点以下，冰晶首先在细胞间隙形成，原生质内的水分迅速透过质膜，进入细胞间隙。细胞外结冰引起原生质体的大量脱水，因此抗寒的草本植物细胞具有较强的耐脱水性能。木本植物组织细胞的细胞液过冷却能力较大，有时可达－40℃。例如，苹果经秋季和初冬的低温锻炼可获得很高的抗寒性。一部分组织的细胞发生胞外结冰，一部分组织的细胞表现出过冷却。

## 四、提高植物抗冷性和抗冻性的途径

### (一) 提高植物抗冷性的途径

所谓抗冷性，就是指植物对冰点以上低温的抵抗与适应能力。根据冷害机理，如果在低温下能保持膜脂的液晶状态，则植物的抗冷性提高；而增加膜脂中不饱和脂肪酸的比例即可维持膜的液晶状态，防止脂类固化，提高抗冷性。在农业实践上已摸索出一些有效的提高作物抗冷性的措施。

**1. 低温锻炼**

试验表明，植物对低温的抵抗完全是个适应锻炼过程，许多植物如预先给予适当的低温处理，而后即可经受更低温度的影响而不致受害。研究表明，凡是经过锻炼的植株，其膜脂的不饱和脂肪酸含量增加，相变温度降低，透性稳定，细胞内$NADPH/NADP^+$的比例增高，ATP含量增加。这些都说明，低温锻炼对细胞的代谢过程产生极为深刻的影响。

**2. 化学诱导**

近年来的研究发现，利用化学药物可诱导植物抗冷性的提高。玉米、棉花的种子播前用TMTD处理可提高幼苗的抗冷性。植物生长物质如CTK、ABA、2,4-D等也能提高植物的抗冷性，其原因可能是通过影响其他生理过程而产生的间接作用，如ABA很可能就是通过使气孔关闭保持细胞水分平衡而使低温不至派生干旱的影响。

**3. 合理施肥**

在低温来临之前，适当增添磷肥和钾肥，少施或不施速效氮肥，有助于植物抗冷性的提高。有人利用$KCl$、$NH_4NO_3$、$H_3BO_3$的混合液喷施瓜类叶片，可避免低温冷害的影响。

### (二) 提高植物抗冻性的途径

抗冻性是植物在冬季对低温的长期适应过程中，通过本身的变异和自然选择而获得的一种抵抗

冻害的能力。不论哪种植物抗冻性都不是固定的性状，而是在一定的环境条件下经过一定的锻炼过程才能形成。

**1. 抗寒锻炼**

幼龄植物的可塑性较强，利用低温处理其萌动种子就可提高其抗冻性。经抗冷锻炼的植物发生了以下变化：细胞内含糖量增加，使细胞液的冰点下降；细胞中束缚水/自由水比值增大；原生质的黏度、弹性增大，新陈代谢活动减弱；内源激素变化，IAA 和 GA 含量下降，ABA 含量上升。

**2. 化学调控**

通过对天然激素与抗冻关系的研究使人们找到了一条利用化学药剂来提高作物抗冻性的途径。ABA 和矮壮素处理均可提高植物的抗冻性，用 GA 处理可降低植物抗冻性，但用生长延缓剂 Amo-1618、$B_9$ 处理可消除 GA 的作用而提高抗冻能力。

**3. 栽培措施**

作物抗冻性的形成是对各种环境条件的综合反应，因此环境条件的变化都可影响抗冻性。据此在农业生产实践中常采取以下措施：适时播种，控肥通气，促使壮苗；寒流来临之前，实行冬灌、熏烟以抵御寒流的袭击；早春的秧田或大田采用薄膜苗床或地膜覆盖也是防止冻害的有效方法。当然，利用具有一定抗寒性状的优良品种应是更为有效的选择。

# 第六节　植物的抗病性

生长在自然环境中的植物或在大田栽培的作物，除了经常遭受非生物性的逆境胁迫外，还无时无刻不受到各种病原微生物的侵染和威胁。虽然植物的一株个体由于病害而生长发育受到影响甚至死亡不会给人类带来什么影响，但一旦某种严重病害大面积传播，导致粮食作物大规模发病，就会给人类带来巨大的灾难。历史上最有影响的作物病害是 1845～1846 年发生在爱尔兰岛上的马铃薯晚疫病，由于马铃薯是爱尔兰岛上居民的主要粮食作物，这次病害使马铃薯绝产而造成数十万人因饥饿而死亡，同时还引起爱尔兰民族向北美洲的大规模移民。植物病害对农、林、牧业影响都很大。据联合国粮农组织统计，植物遭受病害后所造成的损失平均约为总产量的 10%～15%。化学农药虽然对植物病害起到了一定的控制作用，但病原不断产生抗药性，以及农药造成严重的环境污染和生态平衡的严重失调又使农药的大规模使用有其局限性。因此，深入阐明植物对病原物的抗性机制以及培育新型抗病作物、研制高效低毒或无毒农药等具有重要的理论和实践意义。

## 一、植物病害和植物抗病性的概念

### （一）植物的病害

植物病害是指植物受到病原物（包括真菌、细菌和病毒）的侵染并使其生长发育受到抑制的现象。病原物对寄生植物的侵染不同于一般的物理和化学逆境，是一个主动的过程，它可以通过本身所分泌的酶、毒素等来达到侵染的目的，也可以通过直接进入植物体内并在植物体内大量繁殖而对植物造成伤害。病原物分泌的果胶酯酶、果胶酶、角质酶和纤维酶等对寄主植物细胞壁进行水解，造成细胞的渗透胁迫，致使原生质体破裂而死亡。病原物产生的毒素（包括寄主专一性毒素和非专一性毒素）可以破坏寄主细胞的结构、干扰寄主正常生理活动以致杀死寄主植物细胞。病原物对寄主的侵染能力与植物对病原物侵染的抵抗能力是病原物与寄主植物协同进化（coevolution）的结果。

### （二）植物抗病性的概念

植物的抗病性是指植物与病原物之间相互关系中寄主植物抵抗病原物侵染的性能。这是植物的

一种属性，在传统的植物病理学上把植物对病原物侵染的反应分为感病、耐病、抗病和免疫四种类型。但这种区分不是绝对的，往往同一植物对某种病原物可以认为是抗病的，而对另一种病原物则可被视作是感病的，这决定于植物对病原物的亲和性程度，对病原物不亲和的植物品种是属于免疫和抗病的，而亲和的则是感病的。从植物生理学观点看，植物的抗病性是植株在形态结构和生理生化等方面综合的时间上和空间上表现的结果，它是建立在一系列物质代谢的基础上，依赖与抗病性有关的基因表达、抗病调控物质的产生来实现的。近年来通过大量的研究表明，植物的抗病性强弱是由体内抗病基因的存在和这些基因的表达速度、程度以及基因表达所产生的抗病物质的量所决定的。基因表达快、产物活性强的植株抗病性就强，反之则弱。某些诱导因子可以调控植物抗病基因的表达，提高抗病性。

### （三）植物对病原物侵染的生理反应

病原物侵染对植物体内生理生化过程的影响表现在多个方面。

**1. 细胞和组织透性变化**

病原物的侵染通过分泌细胞水解酶和毒素使细胞透性发生变化，表现为组织或膜的电阻下降、胞内物质渗漏增加、叶组织萎蔫等。

**2. 对光合作用的影响**

病原物侵染后普遍使寄主植物光合作用速率降低，其机理可能是病原物侵染降低叶绿体光还原活性、影响非循环光合电子传递，以及使 Rubisco 活性下降。

**3. 呼吸代谢发生变化**

寄主植物的呼吸代谢在病原物侵染后发生显著的变化，主要表现为呼吸速率增加，呼吸氧化途径发生转换，磷酸戊糖途径明显加强。

**4. 植物激素的变化**

抗病性组织在受病原侵染后生长素积累，生长素与体内钙结合可诱导细胞壁可溶性果胶的形成以抵抗病原物产生的果胶酶的降解作用。在感染病原物的植物组织中，常常观察到乙烯的大量合成，它在调控植物体内酚类化合物、植保素、富含羟脯氨酸的糖蛋白合成，以及次生代谢酶系和水解酶类活性增加中起重要作用。

## 二、病原与寄主的互作

引起植物发生病害的病原物有真菌、细菌、病毒和类病毒等几类。一种病原菌有时又分为许多变种和生理小种，一株变种只侵染一种或几种植物，一株小种只侵染某种植物的一个或几个品种。这就是植物与病原物互作的专化性，是二者在长期共同进化中形成的。病原物如果能成功地侵染植物，建立起寄生关系，那么病原和该寄主是亲和的(compatibility)。反之，如果病原不能克服植物的抗病性，那么它们就是不亲和的(incompatibility)。

### （一）病原物的致病作用

病毒一般通过机械擦伤、昆虫介导进入寄主细胞，经胞间连丝进入周围细胞，再经过维管束运往寄主全身。细菌一般通过伤口、气孔、皮孔等进入寄主细胞间隙和导管。真菌能通过机械压力直接插入寄主表皮细胞，或通过伤口、气孔等进入寄主细胞间隙和导管。病原物对植物造成侵害的方式主要包括下属几类。

① 产生破坏寄主细胞的酶类。病原物产生各种水解酶类，如角质酶、果胶酶、纤维素酶、半纤维素酶、磷脂酶和蛋白酶等，水解植物细胞的结构与功能物质使细胞受损甚至死亡。

② 产生破坏寄主细胞膜和正常代谢的毒素。自病原物提取毒素处理健康的植株，能使寄主发生褪绿、坏死和萎蔫等病变，与病原的作用相似。

③ 病原物产生、或引起寄主植物自身产生阻塞寄主导管和引起植物枯萎的物质。

④ 产生破坏寄主抗病物质(如植保素)代谢的酶，瓦解植物的抗病机制。

⑤ 利用寄主的蛋白与核酸合成系统来生产自身的蛋白和核酸。

⑥ 产生植物激素，破坏寄主激素平衡，造成植物的异常生长(如农杆菌)。

⑦ 病原物将自己的DNA插人寄主基因组，迫使寄主产生供给病原物的营养物质。

## (二) 寄主的防卫反应

寄主植物对病原的侵染也有一定的抵御能力，寄主植物的抵抗机制(或防卫反应)可分为两类。一类是受侵染前已存在防止侵人的物理障碍和抗菌物质。物理障碍如细胞壁的角质、蜡质、木质素、栓质和特殊气孔结构。抗菌物质如植物凝集素以及酚类、萜类、黄酮类、萘醌类、不饱和内酯类、皂苷类、生氰糖苷类、β-硫代葡糖苷类和含硫化合物等小分子物质。生氰糖苷类、β-硫代葡糖苷类等在植物受到病原的侵害时，由相应的酶类分解为毒性更强的物质。另一类是因侵染而诱发的主动防卫反应，如植保素的积累、活性氧的释放、生成枯斑的过敏反应和细胞壁的修饰等。

### 1. 细胞壁的修饰

(1)富含羟脯氨酸的糖蛋白　在20世纪70年代，有人在假挪威槭的培养细胞和正常组织的细胞壁中发现一种富含羟脯氨酸的糖蛋白(hydroxyproline-rich glycoprotein，HRGP)，推测其可能在细胞壁伸展中起作用，称之为伸展蛋白(extensin)。现已证明植物体内HRGP的含量增高可增强植物对病原菌的防卫反应。至今已在病原物感染的菜豆、大豆、黄瓜、水稻、小麦等植物中发现HGRP增加。作为细胞壁多聚体，HRGP加强了细胞表面的强度；作为细胞壁多聚阳离子，可调整壁的净电荷，充当趋向负电荷的病原菌的“凝集素”。

(2)胼胝质　胼胝质(callose)分子是β-D-呋喃葡糖残基以β-1，3-糖苷键连接在一起所组成的。这种多糖广泛分布在高等植物中，一般在韧皮部的筛管中找到，在那里是形成筛板。它在病原物人侵后可在细胞壁积累，造成壁的加厚或形成乳头状小突起，它围绕在感染部位具有阻碍病原物扩散的作用。用毛地黄皂苷处理可以人为引起胼胝质在大豆中形成，处理后植株对感染性真菌的敏感性下降了。

### 2. 植保素

植保素(phytoalexin)是植物受侵染后而产生的一类低分子质量的抗病原物的次生代谢物。其产生的速度和积累的量与植物抗病性有关。有人从豌豆未成熟的荚中首先分离鉴定了第一种植保素——豌豆素(pisatin)。至今已发现300多种植保素，从化学结构上大致分为简单酚类(simple phenolic)、类黄酮类(flavonoid)、异黄酮类(isoflavonoid)、萜类(terpene)、芪类(stileben)和聚乙烯(polyacetylene)六类。植保素的积累有以下几个特点。①抗病植株和感病植株同样可以积累植保素。但抗病植株形成的速度快，在感病初期就达到高峰。而在感病植株中植保素积累很慢，病原物在植物体内生长几天后植保素才达到较高的浓度。②植保素只局限在植物受侵染的细胞周围积累，并不运输到植物体的其他部位。植保素集中在被侵染的细胞周围起化学屏障作用。③对植保素的诱导是非专一性的，致病和非致病的病原菌小种都能诱导植保素的合成。

### 3. 木质化作用

木质素是酚类化合物的聚合物，其生物合成通过苯丙烷类代谢途径。一些寄主植物细胞壁在感染病原菌后会发生木质化作用(lignification)——木质素含量增加，这为阻止病原菌对寄主的侵染提供了有效的保护圈。在已研究过的真菌病害中都可以见到病原菌感染所引起的木质化作用。病毒感

染植物后同样也能诱导木质素的增加，围绕着坏死区域的木质化作用是病毒颗粒传播的屏障，起到抑制病毒扩散的作用。木质化作用阻碍真菌侵染的机理是：木质素增加了细胞壁抗真菌穿透的能力；由于病原菌不能分泌分解木质素的酶类，木质化增强了抗酶溶解作用；木质化限制了真菌酶和毒素从真菌向寄主扩散，同时限制了水和营养物质从寄主向真菌的扩散，使病原菌得不到足够的营养从而起到饿死病原菌的作用；木质素的低分子质量酚类前体以及多聚作用时产生的游离基可以钝化真菌的膜、酶和毒素。

**4. 过敏反应**

过敏反应(hypersensitive response，HR)的概念最早是由 Ward 于 1902 年提出，这是植物抗病的基本反应，往往表现在植物被侵染部位的细胞迅速坏死，产生枯斑，从而使病原菌受到遏制或被杀死，或被封锁在枯死组织中。寄主细胞的坏死是 HR 的最大信息特征。植物的过敏反应是抗病的一种典型表现，是寄主对病原菌的高度抗性反应，常用做鉴定寄主抗病的指标。在不亲和组合中，这种过敏性坏死不同于一般意义上的细胞死亡，它是寄主与病原菌之间相互识别、信息传递、最终表现为亲和或不亲和的复杂的细胞反应。它需要消耗能量，并且有蛋白质的合成和活性氧的释放等的参与。有人认为，细胞过敏性坏死实际上是一种细胞程序性死亡。植物过敏反应发生后，很多基因被诱导表达，产生一些物质如植保素、蛋白酶抑制剂等能够抑制病原物的进一步入侵。在许多植物中过敏性反应与植保素是相联系的，但另一些植物(如小麦)的过敏性反应是最明显的抗性反应，还从未发现它们能产生植保素。

**5. 活性氧爆发**

活性氧爆发(oxidative burst)一词来源于哺乳动物吞噬细胞抵御外源病原侵染时产生大量的活性氧(AO)。活性氧指那些含有氧原子但具有比氧更活泼的化学反应性的氧的某些代谢产物及其衍生物。活性氧包括超氧阴离子($O_2^-$)、过氧化氢($H_2O_2$)、羟自由基($OH\cdot$)及单线态氧($^1O_2$)等。分子氧($O_2$)通常反应活性小，无毒害作用，但它的电子结构改变后，就变得很活跃，而且有些活性氧对生物系统毒性很大。一般认为活性氧对病原菌有直接的杀伤作用，另外它能促进胞壁的木质化和胞壁结构蛋白的聚合，形成最初的防卫屏障。它还可以作为信号物质诱导植保素的生物合成，这在大豆、豌豆、番茄、马铃薯和三叶草等植物中已观察到。

**6. 凝集素**

凝集素(lectin)是一类能与多糖结合或使细胞凝集的蛋白，其中多数为糖蛋白。至今已分离得到 100 多种凝集素。尽管各种凝集素在化学组成上有所不同，但它们都具有某种专一地与糖基结合的部位，从而使其对糖基结合具有专一性。豆科植物所产生的凝集素能识别根瘤菌细胞壁中的糖蛋白，并由此决定豆科植物能否与根瘤菌之间建立共生关系。凝集素在寄主植物与病原物相互关系中的作用表现在两个方面：一是寄主凝集素对病原菌的识别存在专一性，这已在多种植物与病原物的研究中得到证实。二是凝集素具有外源抗体类同的作用，凝集素能抑制多种病原菌菌丝的生长和孢子的萌发。

**7. 苯丙烷类代谢酶系**

在黄酮植保素和木质素的生物合成过程中都必须通过苯丙烷类代谢途径。苯丙氨酸解氨酶(PAL)、肉桂酸-4-羟化酶(CA4H)和 4-香豆酸-GoA 联结酶是苯丙烷类代谢途径的关键酶。这三个酶活性在植物体内的变动存在着伴随性。Minamiauka 和 Uritani 首先发现植物感染病原菌后 PAL 活性有明显增强的现象。以后陆续发现多种植物在受到不同的病原菌感染后 PAL 活力均有升高，并且与植物的抗病性有密切关系。这种关系归纳为下列基本特点：①所有植物感染病原菌后 PAL 活力升高都表现出有规律的动态变化；②致病菌对 PAL 活性升高的刺激作用大于非致病菌；③抗病品系植物对病原菌感染诱导所产生的 PAL 活性远比感病品系为高；④酶活性刺激作用在病原菌侵染的周围高于离感染较远的部位；⑤用病原菌产生的毒素处理同病原菌接种感染一样能刺激 PAL 活性升高，

而且毒素的作用显得更强烈，反应更早；⑥从真菌培养液和菌丝细胞壁制备的激发子(clicitor)同样能诱导 PAL 和 4CL 活性升高；⑦用病原菌孢子、菌液处理植物的愈伤组织也同样可以诱导 PAL 活性。因此认为，苯丙烷类代谢的酶系，尤其是 PAL 的活性可以作为植物抗病性的一个生化指标。

**8. 过氧化物酶**

已知过氧化物酶在由酚类聚合为木质素的过程中起着重要作用，因此此酶与植物抗病性有着密切关系。用烟草花叶病毒(TMV)接种不同抗性的番茄品种后发现，抗病品种的过氧化物酶活性增强，酶活性曲线有两个高峰，同工酶带也比感病品种多一条；而感病品种酶活性只有一个高峰。对白粉病具不同抗性的小麦品种接种白粉病菌后，发现过氧化物酶活性与抗性呈正相关，抗性品种同工酶谱也比感性品种多一条酶带。因此认为过氧化物酶活性和同工酶谱可以成为鉴定品种抗病性的有一定价值的生化指标。

**9. 几丁质酶**

几丁质酶(chitinase)降解几丁质(聚 *N*-乙酰胺基葡萄糖)，此酶在高等植物中普遍存在，但是人们至今还未能发现植物中存在几丁质。由于许多危害植物的病原物细胞壁的主要成分之一是几丁质，因而可以想像几丁质酶在植物抗病防卫反应中应有重要作用。抗性植物在感染病原菌后几丁质酶的活性迅速增强。如一种具有抗性的烟草，在感染 TMV 后产生过敏性反应的同时，几丁质酶活性在叶子中增加了 20 倍，但在感性品种中则观察不到。几丁质酶活性不仅可以由病原物的感染而增强，而且还能被诱导物如乙烯以及一些无机物所诱导。酶活性的诱导是与其 mRNA 的增加相伴随的，证明此酶是重新合成的。人们已开始试图利用基因工程手段通过提高植物几丁质酶的水平从而提高植物抗病性的研究。

**10. 病程相关蛋白**

当一些植物受病原物侵染后，随着症状的发展，在处理部位或新生长部位产生的一种或多种新的蛋白，由于它们在特定病理条件下受诱导产生，故命名为病程相关蛋白(pathogenesis-related protein, PR)。目前研究最详细的是烟草中产生的各种病程相关蛋白，它们有下列特征：分子质量较低、在低 pH 下能被选择地提取、具有抗蛋白水解酶作用的特性、主要定位于细胞间隙空间以及在进化上相对保守。

综上所述，从生理生化观点来看，植物的抗病性是植株形态结构和防卫反应等各方面的综合结果。在感病组合中，防卫反应也是表达的，它也能阻碍病原菌的生长，但是其表达程度不足以使寄主表现抗病，因此感抗的差异不在于防卫基因的有无，而可能取决于防卫基因表达在时间、空间和强度上的差异。

## 三、植物与病原互作中的激发子和抑制子

### (一) 激　发　子

用病原菌接种植物，能诱导植物防卫反应的表达。后来发现，用某些菌的培养滤液处理植物也能诱导植物防卫反应的表达，并纯化了其中的活性成分，由此提出激发子(elicitor)的概念。1972 年 Keen 首次将来源于微生物并和微生物一样能诱导植物产生植保素的物质定义为激发子。后来人们将此概念加以扩展，将能诱导寄主防卫反应的一些生物来源和非生物来源的物质统称为激发子。第六次国际植物组织细胞培养大会规定激发子仅为来自生物的化合物。其中，来自植物的分子称为内源激发子(endogenous elicitor)，来自微生物的分子称为真激发子(genuine elicitor)。随着抗病性机理研究向分子水平的深入，人们认识到，各种生物因子对植物抗病性的诱导，最终都要通过某种分子，作为“信号”来启动植物体的抗性机制。激发子作为引起植物防卫反应的一种确定的生化信号，在植物

与病原的相互作用中能快速、高度专一地诱导植物特定基因的表达。近年来，越来越多的实验证明激发子和防卫反应可作为研究植物信号识别及胞内信息传递的良好实验体系。

### 1. 激发子的化学性质和种类

Cruickshank 等首次报道了自从梗孢菌(*Monilinia fructicola*)菌丝体提取物中的一种多肽能诱导菜豆中积累菜豆素(phaseollin)。至今，已经从许多真菌细胞壁、细菌细胞膜或寄主植物细胞间隙液等组分中分离到了激发子，它们都能诱导植物的某种或多种防卫反应的增强。大多数激发子是一个大分子，其组分主要为碳水化合物、糖蛋白、蛋白质和脂肪酸。表 19-7 列举了几种有代表性的激发子。

虽然在许多植物与病原物互作体系中都分离到了激发子并鉴定了其成分，但到目前为止，人们只对两个激发子的结构了解得比较清楚，一是从大雄疫霉胞壁中提取的多糖激发子，另一是从感染黄枝孢菌的番茄叶片细胞间隙液中提取的多肽激发子。

**表 19-7　几种有代表性的激发子**

| 激发子成分 | 真　菌 | 寄主 | 来源 | 诱导防卫反应 |
|---|---|---|---|---|
| 七聚葡糖 | 大雄疫霉菌(*Phytophthora megasperma*) | 大豆 | Mw | 植保素 |
| 几丁聚糖 | 腐皮镰孢菌(*Fusarium solani*) | 豌豆 | Mw | 植保素/木质化 |
| 糖蛋白 | 菜豆炭疽病菌(*Colletotrichum lindemuthianum*) | 豌豆 | Mw | 植保素 |
| 糖蛋白 | 大雄疫霉菌(*Phytophthora megasperma*) | 欧芹 | Mw | 植保素 |
| 多肽 | 暗黄枝孢菌(*Cladosporium fulvum*) | 番茄 | IWF | 植保素 |
| 蛋白质 | 黑麦喙孢菌(*Rhynchosporium secalis*) | 大麦 | Mw | 过敏反应 |
| 花生四稀酸 | 致病疫霉菌(*Phytophtora infestans*) | 马铃薯 | Mw | 植保素 |
| 环氧硬脂酸 | 禾柄锈菌(*Puccinia graminis*) | 谷物 | Ure | 过敏反应 |

注：Mw：菌丝细胞壁；IWF：细胞间隙液；Ure：夏孢子。

### 2. 激发子的受体

被侵染的植物细胞上与激发子互作的寄主成分称为受体，它起接受病原信号的作用。一般认为，受体存在于细胞膜上。利用激发子对植物细胞膜的可逆结合，已证明在水稻、番茄和欧芹细胞质膜上存在相应的激发子受体。Cosio 等用配体-受体交联电泳找到了大豆细胞质膜上诱导植保素的七聚葡糖苷的受体蛋白。相对而言，受体是植物信号识别和转导研究中的薄弱环节，因为受体的分离非常困难。目前，还只有燕麦维多利亚长蠕孢毒素 C(Victorin c)的受体已经被分离，是分子质量为 100 kDa 的蛋白质。植物中最引人注意的识别因子是凝集素。凝集素是一类糖蛋白或蛋白，它能够与某些糖类专一地结合，而许多激发子本身正是糖类或糖蛋白。另外，激发子的结合位点也可能直接位于专一的核 DNA 序列上。

### 3. 激发子的专化性

目前得到的激发子大多数为非专化性的，它既能诱导抗病品种发生防卫反应也能诱导感病品种发生防卫反应。有的激发子甚至没有种的特异性。但是有少数激发子具小种-品种专化性，典型的是从豆刺盘孢菌 α 小种分离到的糖蛋白激发子只能诱导不亲和的菜豆品种合成植保素；从感染黄枝孢菌的番茄叶片提取的 IWF 中含有小种-品种专化性多肽激发子，而从菌壁和培养液中获得的激发子却无专化性，所以在植物体中生长似乎是形成这个小种专化性激发子所必需的。随着研究的不断深入，又发现了一些新的小种专化性激发子，如带 avrRrsl 无毒力基因的黑麦嘴孢菌(*Rhynchosporum secalis*)的一种含 62 个氨基酸的 NIP 蛋白，就是小种专化性激发子，它能使带 Rrsl 抗病基因的大麦对此病原产生抗性。多年来一直以为燕麦维多利亚长蠕孢毒素(Victorin C)是含抗病基因 pc-2 的专化性毒素，但近年来的研究证明它实际上是诱导 HR 的专化性激发子。另外，当改用较温和的方法提取

激发子时，有的激发子显示小种专化性。因此，提取和分离的方法可能是一个关键因素。有些决定激发子专化性的物质可能会在纯化过程中丢掉。

总之，激发子是寄主-病原菌互作中诱发防卫反应的一类化学因子，对于启动寄主抗性表达起着关键的作用。因此对激发子的研究，尤其是查明它的化学性质、结构和作用方式等，对于了解寄主-病原菌的分子识别、侵染信号的转导以及防卫基因表达的调控等分子机制都有着重要作用。

### （二）抑　制　子

在植物与病原互作中，除了能产生激发子外，还有抑制子（suppressor）的存在。抑制子是指能抑制或推迟寄主植物防卫反应而使病原微生物得以侵染成功的分子。抑制子同激发子一样，有的具有品种-小种专化性，有的则无专化性。从来源上也可分为寄主来源抑制子和真菌来源抑制子。其成分主要为小分子的多糖、糖蛋白、蛋白等。大多数模型都假设激发子作用的最初靶点是寄主质膜上的受体，然而抑制子如何抑制激发子诱导的胞内代谢变化却有多种说法。抑制子可能有这几种作用方式：①破坏最初的识别，如干扰激发子与受体的结合；②妨碍信号传导，如阻止第二信使的形成；③抑制基因活化，如与调节蛋白互作；④抑制防卫反应中酶活性，如抑制植保素和木质素合成的酶活性。至今，对抑制子如何干扰抗性反应还不很清楚。

## 四、病原与寄主关系的遗传学分析

Flor 在研究亚麻和锈菌专化性中提出“基因对基因”（gene-for-gene）学说，初步说明了寄主与病原相互关系的遗传基础。他认为：如果寄主中有一个调节抗病性的基因，那么病原菌中也有一个相应的基因调节对寄主的致病性。其中，亲和病原带毒性基因（*vir*），不亲和病原带无毒基因（*avr*），不亲和寄主带抗性基因（*R*），亲和寄主带感病基因（*s*）。病原无毒基因和寄主抗病基因是显性基因、病原毒性基因和寄主感病基因是隐性基因。植物品种的抗病基因和与之相应的病原物的无毒基因结合时抗性才得以表达，即 *avr* 基因和 *R* 基因互作诱导抗性的高度表达，而在其他情况下寄主都是感病的。

现在一般公认寄主的抗病基因和防卫基因是两个不同的概念，抗病基因直接或间接产生对病原无毒基因产物的识别物质，它决定寄主与病原的亲和与不亲和。而防卫反应在寄主与病原识别后被诱导表达，进而导致寄主在形态结构、生理生化上发生一系列变化，限制病原菌的进一步生长繁殖。因此抗病基因产物是种效应分子，本身无杀菌作用，真正对病原增殖起限制作用的是防卫基因的产物。所以在植物抗病性反应中包括两个阶段，第一阶段为决定阶段，通过病原无毒基因产物和寄主抗病基因产物相互识别，决定寄主抗病性的表达。第二阶段是表达阶段，即防卫反应表达。如果植物不能及时激活自身的防卫反应就会感病。

### （一）植物的抗病基因

分离和克隆抗病基因并加以利用是研究植物与病原互作的最终目标。利用转座子标签技术分离到第一个抗病基因：玉米抗圆斑病菌（*Cochliobolus carbonum*）小种 1 的 *Hm1* 基因。*Hm1* 编码依赖 NADP 的毒素还原酶，这个酶能使一些真菌小种产生的毒素失活。利用染色体步移和转座子标签技术已经自多种植物种分离克隆了到一些抗病（R）基因（表 19-8）。

由表 19-8 可知，除 *Hm1* 基因编码毒素还原酶外，其他几个抗病基因编码的蛋白都似乎与细胞的信号转导过程有关。很多抗病基因编码蛋白含有富含亮氨酸的重复序列（LRR），这种序列通常参与蛋白与蛋白之间的相互作用。有的抗病基因本身编码蛋白激酶，如番茄的 *Pto* 基因编码类似丝氨酸/苏氨酸激酶的蛋白质，我们知道磷酸化和去磷酸化是生物体调节蛋白质活性的一种很重要的方式，蛋白激酶通过调节蛋白的磷酸化状态进行信号的传递，所以 Pto 的蛋白激酶结构就暗示着它在信号转

导中起作用。

根据"基因对基因"学说，抗病基因产物应具有受体的性质，但只有少数抗病基因如 *Xa21* 和几个 *cf* 基因的产物含有跨膜序列，可能是膜上受体。其余的都是胞内蛋白(如烟草的 N，拟南芥的 RPS2、RPM1、RPP5 和亚麻的 L6)和质膜内侧蛋白(如番茄的 Pto)。根据这些抗病基因产物在细胞的定位及结构特性推测，它们可能作为激发子的膜受体或胞内受体，诱导防御反应的下游事件，或者与其他成员协同进行调节作用，即抗病信号转导中起重要作用。但是，这些抗病基因产物是不是信号转导组分还没有直接的证据，尚待实验证明。另外，从表 19-8 中还可以看出，虽然不同植物的 R 基因分别对多种病原物有专化性，但不同的 R 基因却常编码结构相似的蛋白，这种相似性暗示着，植物在诱发防卫反应时可能遵循一个高度保守的机制。

**表 19-8　已克隆的植物抗病基因**

| 抗病基因 | 植物 | 病原菌 | 对应无毒基因 | 编码蛋白结构 |
|---|---|---|---|---|
| *Hm1* | 玉米 | 旋孢腔煤霉菌(*Cochliobolus carbonum*) | 无 | 毒素还原酶 |
| *Pto* | 番茄 | 丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*) | *avrPto* | 蛋白激酶 |
| *Xa21* | 水稻 | 野油菜黄单胞菌(*Xanthomonas campestris*) | 未知 | LRR，蛋白激酶 |
| *RPS2* | 拟南芥 | 丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*) | *avrRpt2* | LRR，NBS，LZ |
| *RPM* | 拟南芥 | 丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*) | *avrRpm1*<br>*avrB* | LRR，NBS，LZ |
| *Prf* | 番茄 | 丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*) | *avrPto* | LRR，NBS，LZ |
| *N* | 烟草 | 烟草花叶病毒(Tobacco mosaic virus) | 未知 | LRR，NBS |
| *L6* | 亚麻 | 亚麻栅锈菌(*Melampsora lini*) | 未知 | LRR，NBS |
| *Cf-9* | 番茄 | 暗黄枝孢菌(*Cladosporium. fulvum*) | *avr9* | LRR |
| *Cf-2* | 番茄 | 暗黄枝孢菌(*Cladosporium fulvum*) | *avr2* | LRR |

注 R：亮氨酸重复序列；NBS：核苷酸结合位点；LZ：亮氨酸拉链；LRR：富含亮氨酸重复序列。

## (二) 植物的防卫基因

防卫基因对信号的刺激反应非常迅速，当用激发子处理菜豆悬浮细胞 2～5 分钟后，与植保素合成有关的酶及几丁质酶的基因就表达了。表现为 mRNA 含量升高，模板活性增强，翻译速度加快。各种防卫基因表达具有组织、器官和细胞类型特异性及时间上的先后差异，例如用激发子处理菜豆悬浮细胞，最先表达的是植保素合成有关酶的基因，其后是水解酶和 PR 基因，再后是木质素、HRGP 和 GRP 等基因。

利用差示杂交法，已克隆到一些与植保素、木质素合成相关的酶的基因，还有许多 PR 基因、GRGP 及 GRP 基因、乙烯及酚类物质合成酶的基因，病原物酶抑制基因，以及一些功能未知但与防卫反应有关的 cDNA 克隆。研究发现，许多防卫基因都是诱导表达的，且多以基因家族出现，即有多个拷贝。

## (三) 病原的无毒基因

第一个病原无毒(*avr*)基因于 10 年前就已经被克隆，目前已有很多 *avr* 基因被克隆。大多数 *avr* 基因的核苷酸序列和推测的氨基酸序列很少能提示功能上的信息。但也有少数 *avr* 基因表明其编码的蛋白能直接作为诱导防卫反应的配基，如 *avrPto*、*avrB* 和 *avrBs3* 基因。人们对两类无毒基因蛋白进行了广泛的研究，一个是 TMV 的衣壳蛋白，它作为特异性激发子，诱导带相应 N 抗病基因的烟草

品种起过敏性反应。但目前 TMV 衣壳蛋白还没有找到相应的受体。另一个是 *avr9*，因为 *avr9* 基因的产物是个 28 个氨基酸的多肽，它作为一个特异的激发子诱导带 cf-9 的番茄抗病，而且已经分离到了激发子相应的 R 基因 *cf-9*。

*avr* 基因也可以间接产生专化性激发子，如表达 *avrD* 的番茄病原菌能产生一系列化学结构相似的低分子量的有机化合物(syringolide)，它们作为激发子起作用。很显然，*avrD* 不编码这些非蛋白成分的激发子。但它可能编码一种参与这些激发子合成的酶。对于所有基因对基因体系的研究，未来一个很重要的目标是研究和阐明小种专化性激发子和其受体的物理互作。

基因对基因学说是为了突出 *avr* 基因和 R 基因的特异互作，但这并不意味着只有一个 R 基因和一个特定的 *avr* 基因互作。例如 *Pto* 和 *Prf* 基因分别编码不同的成分，但它们识别同一 *avr* 基因型。另一个概念上的不同是 *cf-2* 基因座上有两个不同的基因，在这种情况下两个不同的 R 基因行使相同的功能。一个 R 基因也可以同时和几个 *avr* 基因互作。

### 五、植物的诱导抗病性

植物对病原物的抗性可以通过诱导产生。利用生物的或者物理化学的因子处理植株，改变植物对病害的反应，使植物对某一病害或某些病害由原来的感病转变为抗病的现象称为诱导抗病性。真菌、细菌、病毒等都可作为诱导因子。乙烯、水杨酸、脂多糖以及从真菌细胞中提取的诱导物也可作为诱导因子。早在 1901 年，Beaurerie 用加热方法得到灰霉菌的弱菌株来保护秋海棠不受毒力菌系的侵染。Brown 用冠瘿病菌接种菊花后，再用活的同样冠瘿病菌接种，就不发病。许多实验都说明植物有获得诱导性抗病性的现象。目前已在烟草、黄瓜、西瓜、马铃薯、小麦、苹果、哈密瓜等多种植物中获得诱导抗病性。

植物的诱导抗病性不是瞬间产生的，如果诱导处理之后立即进行激发接种，植物就不会产生免疫作用。一般用真菌或细菌诱导接种，需要 72～96 小时后才出现免疫反应，用病毒进行诱导处理也要经过 48～72 小时才开始抗性表达，以后作用逐渐增强，通常到第 7 天达到最大效果。

诱导的抗病性具有系统性和持续性。免疫反应可以从处理部位扩散到周身，并能维持较长时间。例如黄瓜用 TMV 和瓜刺盘孢菌处理第一片真叶，2～3 周后再进行一次强化接种，可使黄瓜在整个生长期内对瓜类炭疽病、瓜枝孢和假单孢菌获得整体免疫。另外，诱导产生的抗病性可以通过嫁接从砧木传导到接穗。

不同的诱导因子都能诱导对同一病害的抗性，同一诱导因子也可以诱导出对数种病害的抗性。当然，各种诱导因子的诱导效应是有差别的，同一诱导因子对不同的病害抗性的诱导上也有差别。

对植物的诱导抗病性机理的研究表明，植物经诱导后体内一些同抗病有关的物质表达增强了。如免疫植株中的过氧化物酶活性比非免疫的增加 3 倍，几丁质酶活性增强，另外还有木质化作用加速、PR 蛋白产生、一些对病原物有害的物质在体内迅速合成和积累等。这些都说明免疫诱导快速启动了同抗病有关的基因，增强了这些基因的表达速度和强度，因而增加基因表达所形成的物质，从而使植物表现出抗病性或免疫性。

## 第七节　环境污染对植物的影响

随着经济的飞速发展，环境污染问题也变得越来越严重。就污染的因素来说，可分为大气污染、水体污染和土壤污染。其中对植物危害最大、人们研究最多的是大气污染。

# 一、大气污染

## （一）大气污染对植物的伤害

由于人类活动或自然灾害，大气中的成分或某些成分的含量会发生变化。当这种大气成分或某些成分的含量变化对人类健康和动植物生长构成危害时，即形成所谓“大气污染”。造成大气污染的因素很多，主要有硫化物、氟化物、粉尘和光化学烟雾等的增加。植物叶片是植物与周围大气进行气体交换最活跃的部分，有害气体通过气孔进入叶片，如果积累浓度超过了植物敏感阈值，就会造成对植物的伤害。大气污染对植物的危害不仅与有害气体的种类、浓度和持续时间有关，而且同植物的种类、发育阶段、生长状况及其他环境条件有关。植物受大气污染的伤害按程度可分为三类：急性危害、慢性危害和隐性危害。急性危害是指植物在短期内接触高浓度的污染物所造成的危害，如叶片出现伤斑、枯萎、脱落，甚至植株死亡。慢性危害是指低浓度的污染物在长时间作用下造成的危害，如叶片发黄到缺绿变白、生长发育受影响。隐性危害是指植物外表生长发育正常，无肉眼可见症状，只造成生理障碍，产量下降。另外，大气污染不仅会给植物造成直接的伤害，而且植物还会因生长发育不良、抗逆性减弱，产生一些间接影响，如易受病虫的侵袭等。

**1. $SO_2$ 对植物的伤害**

硫是植物必需的矿质元素之一，植物所需要的硫 90％来自大气中，因此一定浓度的 $SO_2$ 对植物是有利的。但如果大气中的含硫量超过了植物的需要，硫就会在植物体内积累，达到一定浓度时，就会给植物造成伤害。$SO_2$ 是我国目前主要的大气污染物之一，对植物的危害比较严重。如果 $SO_2$ 被氧化为 $SO_3$，遇雨即可形成“酸雨”。

高浓度的 $SO_2$ 对植物会产生急性危害。$SO_2$ 侵入植物体后，首先从气孔周围的细胞扩散到叶肉海绵组织，再到栅栏组织，破坏细胞的叶绿体。使叶脉之间以及叶的边缘变成白色，使组织脱水，叶组织死亡。$SO_2$ 浓度较低时，植物受害部位的细胞失去绿色，逐渐变为浅褐色或白色。$SO_2$ 对植物伤害的典型特征是坏死斑与健康组织间的界限十分明显。

$SO_2$ 是一种还原性很强的酸性气体，进入植物组织后可变成 $H_2SO_3$，它进一步解离为重亚硫酸离子（$HSO_3^-$）和亚硫酸根离子（$SO_3^{2-}$），同时产生 $H^+$，最后慢慢被氧化为毒性较小的 $SO_4^{2-}$。$SO_2$ 对植物造成伤害的原因可能有：①因 $H^+$ 使细胞 pH 降低而引起直接伤害，$H^+$ 的直接作用是降低细胞的 pH，对植物组织汁液 pH 与 $SO_2$ 抗性的关系的研究表明，凡组织汁液 pH 较低的植物更容易受 $SO_2$ 伤害，接近中性或偏碱者则抗性较强；②$HSO_3^-$ 和 $SO_3^{2-}$ 可对植物造成直接或间接的伤害，主要是对植物的光合器官造成破坏，如抑制碳同化系统的酶类、分解叶绿素和使膜脂过氧化等，从而影响光合作用。

**2. 氟化物对植物的伤害**

大气氟污染的主要来源是炼铝厂和磷肥厂。在造成大气污染的氟化物中，排放量最大、毒性最强的是 HF，当其浓度为 1～5 ppb（十亿分之一）时，较长时间的接触即能使植物受害。植物受氟化物危害时，叶尖和叶缘出现红棕色至黄褐色的坏死斑，受害组织与正常组织之间形成一条暗色的带。幼叶、幼芽最易受氟化物的危害。HF 从气孔进入叶片组织，然后通过导管向叶尖、叶缘移动，它容易在叶片积累，而极少向其他器官转运。氟引起植物伤害的机理可能有：①氟是植物体内的一些酶（烯醇化酶、琥珀酸脱氢酶等）的抑制剂；②氟可能与 $Ca^{2+}$、$Mg^{2+}$ 等结合成难溶性的化合物，从而影响某些酶的活性；③氟也可使叶绿素合成受阻，破坏叶绿素的结构。

**3. 光化学烟雾对植物的伤害**

石油化工企业产生的废气和汽车尾气是以一氧化氮和烯烃类为主的混合气体。这些物质比重较

轻而易上升至高空，在阳光的紫外线作用下发生各种化学反应，形成 $O_3$、$NO_2$、醛类和硝酸过氧化乙酰等有害气体物质，再与大气中的硫酸液滴、硝酸液滴接触成为淡蓝色的烟雾。由于这种烟雾是通过光化学作用形成的，因此称为光化学烟雾。

(1)臭氧　$O_3$ 是光化学烟雾中的主要成分，氧化能力极强。对氧敏感的植物如菠菜、蚕豆和烟草等，当暴露在 $O_3$ 浓度为 0.5 ppb 的环境中时，只要 4 小时就会出现伤害。$O_3$ 伤害的典型症状是在叶面上出现密集、细小的斑点，有的植物上表皮出现褐色、红或紫色，严重的大面积出现失绿斑块。$O_3$ 对植物的影响是极其复杂的，其作用机理目前还不很清楚。主要可能是：① 破坏质膜，$O_3$ 能氧化膜中的不饱和脂肪酸和蛋白质，从面使膜的结构破坏；② $O_3$ 可使植物体的防御酶系失活，$O_3$ 不是自由基，但能与 $O_2$ 作用生成自由基，使活性氧防御体系的一些酶失活或活性下降；③ $O_3$ 还可以把—SH 氧化，从而破坏以--SH 为活性基团的酶类(如多种脱氢酶)，影响细胞内的代谢活动；④ $O_3$ 还能抑制光合作用，随 $O_3$ 浓度增加，光合作用呈直线下降。

(2)二氧化氮($NO_2$)　$NO_2$ 对植物的影响与 $SO_2$、$O_3$、HF 等有所不同，低浓度的 $NO_2$ 不会引起植物伤害，高浓度 $NO_2$ 才会造成急性伤害。另外在黑暗中或弱光下接触 $NO_2$ 比在光照下接触 $NO_2$ 更容易产生伤害。$NO_2$ 引起植物的初始症状是在叶片上形成水渍斑，在暗中这种伤斑仍为绿色，只有见光后，才会失绿、褪色而坏死。绿色植物中存在硝酸还原酶和亚硝酸还原酶，在光照下，它们从光合作用中取得还原力，使进入植物的 $NO_2$ 迅速还原，所以光下植物能认识一定浓度的 $NO_2$ 面不出现伤害症状。在光照下，亚硝酸还原酶活性不受 $NO_2$ 的影响，形成的 $NO_2$ 可以不断得到代谢。但在暗中，亚硝酸还原酶不起作用或作用很小，由于它转化 $NO_2^-$ 的能力跟不上 $NO_2^-$ 的形成速度，导致 $NO_2$ 在体内的积累，形成伤害。

(3)硝酸过氧化乙酰　硝酸过氧化乙酰有剧毒，在空气中浓度只要在 20 ppm 以上时就会伤害植物。症状是，初期叶背呈银灰色或古铜斑点，好像被上釉一样，随后叶背变皱、扭曲，呈半透明状。更严重时，叶片两面都坏死。硝酸过氧化乙酰能抑制植物的光合作用、影响磷酸戊糖代谢途径、以及影响植物细胞壁的合成。

## (二) 植物对大气污染的抵抗

植物对大气污染的抗性分为三类：屏蔽性(avoidance)、忍耐性(tolerance)和适应性(adaptation)。屏蔽性是使污染物不进入或少进入组织、细胞，这与叶片形态结构、气孔控制能力有关；忍耐性是指污染物进入细胞内，由于一系列生理生化特性而限制其毒性或少受其毒害，还可通过代谢解毒机制进行防御；适应性是指生长在污染区的植物，在一定的大气污染浓度阈值下，伤害不再继续增加，产生一种抗污染的适应机制。

**1. 屏蔽性**

有的植物其形态结构有利于阻挡污染气体进入叶内，例如叶片角质层厚，表皮细胞小而致密，细胞壁木栓化等。植物还能够通过调节气孔运动的方式来阻碍污染气体的进入。例如有的植物遇到污染气体时，气孔孔径变小，甚至关闭，使有害气体难以进入。近年来的研究表明，内源激素脱落酸(ABA)对气孔调控起着重要作用。用 ABA 溶液涂布叶片，4 小时内气孔开度明显缩小，再暴露在污染空气中，受害明显减轻，进一步试验发现叶片中 ABA 含量高的植物的气孔对大气污染反应灵敏，如花生、番茄的某些品种，暴露在 0.5ppm $O_3$ 中气孔迅速关闭，表现出较强的抗性。而萝卜等植株中的 ABA 含量相对较低，要经较长时间气孔才慢慢关闭，容易受害。

**2. 忍耐性**

尽管植物通过气孔调节能防止部分有害气体侵入，但气孔不可能完全闭合，所以一部分有害气体仍能进入植物体内。有些植物可通过体内的代谢系统来减轻大气污染带来的危害，如硝酸、亚硝酸还

原酶使 $NO_3^-$、$NO_2^-$ 转化为 $NH_3$ 而参与氨基酸的合成；亚硫酸氧化酶系统可使 $SO_3^{2-}$、$HSO_3^-$ 转成毒性较小的 $SO_4^{2-}$，一部分用于胱氨酸的合成，一部分还原成 $H_2S$ 而被释放到大气中去。另外植物体内还存在一些清除活性氧的物质，如 SOD、过氧化物酶、铁氧还蛋白、抗坏血酸和还原型谷胱甘肽等，能够清除由于大气污染产生的有毒害作用的活性氧，从而降低污染的危害。

**3. 适应性**

有些植物在大气污染下出现可见的伤害症状，但如果继续暴露在污染大气中，可见伤害并不进一步发展，一些伤害指标如细胞膜透性等也得到一定的恢复。种种迹象表明，代谢向正常化的趋势发展。这说明植物对大气污染有一定的适应性。

## 二、水体污染

污染水体的物质种类很多，有重金属、洗涤剂、氰化物、有机酸、漂白粉、酚类、染料等。水体污染不仅危害人类的健康，也危害水生生物的生长，而且也影响植物的生长发育。酚类化合物常存在于石油、化工、煤气和炼焦等工业排放的废水中，当污水中酚类浓度达 250ppm 以上时就会使植物的生长受抑制。蔬菜对酚类污染的反应极为敏感，当污水中酚量超过 50ppm 时，生长明显受抑制。研究发现酚会损伤细胞质膜，影响水分和矿质代谢。在工业污水中常含 Hg、Cr、As、Cd、Pb 等重金属离子，在很低浓度下就会使植物受害。研究表明，重金属致害的机理可能与蛋白质变性有关。一方面它们能置换某些酶蛋白中的 Fe、Mn 等活性基，抑制酶的活性，干扰正常代谢；另一方面，它们能与膜蛋白结合，影响膜的通透性，此外，重金属离子浓度过高会使原生质变性。

石油中的一些有机物质可被植物吸收、积累，直接引起伤害。另外石油覆盖在土壤表面能降低水中的含氧量，同时也可造成水温的升高，加速土壤中的还原作用，产生 $H_2S$ 间接伤害植物，植物受油类物质伤害后，植株矮小，分蘖减少，严重时植物枯萎死亡。值得注意的是，在含石油的污水中存在一种致癌性强的稠环芳香烃(3,4－苯并吡)，通过植物的富集又能转而危害人的健康。因此用石化污水灌溉时，含油量应严格控制在 5 ppm 以下。

从另一方面来说，植物对水体污染有净化作用。水生植物中的水葫芦、浮萍、金鱼藻和黑藻等能吸收水中酚和氰化物，也可吸收汞、铅、镉和砷。污染物被植物吸收后，有的分解为营养物质，有的形成络合物而降低毒性，所以植物具有解毒的作用。例如酚进入植物体内后，大部分与糖结合生成酚糖苷，对植物无毒，储存于细胞内。还有一小部分游离酚能被多酚氧化酶和过氧化物酶氧化，生成 $CO_2$、$H_2O$ 和其他无毒的物质，从而解除毒性。

目前江河湖泊的富营养化问题已变得日趋严重，这主要是农田施用过量氮肥的结果。

## 三、土壤污染

土壤污染主要来自水污染和大气污染。用污水灌溉农田，有毒物质会沉积在土壤中；大气污染物随雨、雪降落到地表渗入土壤，都会造成土壤污染。施用某些残留量较高的化学农药(如六六六)，也会污染土壤。土壤污染对植物的危害很严重。首先，引起土壤酸碱度变化，如 $SO_2$ 溶于土壤中使土壤酸化；各种污染物进入土壤后直接伤害植物；而且生长在被污染土壤中的植物能够富积有害物质，通过食物链转而危害人类健康。土壤中积累的重金属对植物也有毒害作用。

总之，环境污染不仅影响植物正常生长发育而且给人类健康也带来严重威胁，因此，保护环境、促进经济的可持续发展成为实现工农业现代化进程中必须解决的一个现实问题。

## 四、大气 $CO_2$ 浓度的增高对植物代谢的影响

20 世纪 80 年代以来的全球气候变化(通常简称全球变化，global change)已成为各国科学家、政

府领导人以及公众共同关心的问题。全球变化指人类活动引起的大气、生物、地球以及水域系统的变化，主要是由于森林的过度采伐、化石能源的大量消耗、有害物质(废水、废气、废弃固体)的过量排放而导致温室气体($CO_2$ 等)的增加、酸雨的生成、大气层臭氧洞出现等等。围绕大气中 $CO_2$ 浓度的增高对植物代谢以及生长发育的影响，植物生理学家们已经进行了多年广泛深入的研究。

## (一) 大气 $CO_2$ 浓度提高对光合作用的影响

**1. 光合效率的提高**

$CO_2$ 作为光合作用的底物其浓度的提高自然有利于光合碳同化速率的增加，尤其是对 $C_3$ 植物的作用更为明显。有人综合了大量实验结果后认为，$C_4$ 植物在 $CO_2$ 倍增后净光合速率只增加了 4%，而 $C_3$ 植物则提高了 66%。这一特点自然是由于 $C_3$、$C_4$ 植物结构和功能差异所决定的。

**2. 光合作用对高 $CO_2$ 反应的驯化现象**

在用高浓度 $CO_2$ 处理植物的数周内，植物的净光合速率有所增加，但如果继续对植物进行高浓度 $CO_2$ 处理，净光合速率的增加又明显减少，这种现象称为植物光合作用对高 $CO_2$ 反应的驯化现象。也有驯化导致光合速率比在正常浓度 $CO_2$ 情况下更低的实验报告，这与所用的实验条件有关系。生长在田间的植物其根系生长不受水分、营养等因素的限制，在高 $CO_2$ 条件下其净光合作用大多是增高的。而生长在培养室的盆栽植物，高 $CO_2$ 表现出对光合作用的负效应。驯化现象有时是人为的假象。近年的研究证明高浓度 $CO_2$ 下光合作用的下调往往是库不足所致。长期生长在高 $CO_2$ 条件下的植物是否出现驯化现象取决于它对已有库的促进、新库的形成以及过量碳水化合物临时储存库的生成的作用。库容的大小既决定于植物的遗传因子，也与环境因素有关。高 $CO_2$ 条件下光合作用的驯化有其生物化学基础，光合作用对高 $CO_2$ 的驯化往往与 Rubisco 的含量或活性下降关联，这是长期驯化现象出现的原因。而光合作用中 Calvin 循环的产物磷酸丙糖未能及时利用则产生对光合作用的终产物抑制。此时光合磷酸化所需的无机磷的供应不足，不能正常进入再循环，成为限制光合作用的初始的和瞬时的源-库不平衡，是较短期间出现光合作用驯化现象的原因。

## (二) 高 $CO_2$ 导致净光合速率增高的次级效应

高 $CO_2$ 浓度条件下可使植物净光合速率提高，这种物质积累的增加使植物本身以及与植物相关的土壤环境、尤其是土壤微生物随之发生变化，而这些变化又会反馈影响植物的生长和发育。

**1. 根/冠比和碳/氮比的改变**

有不少实验发现在田间条件下根/冠比变化较小，但甜菜等块根作物根/冠比明显增高，可增加 30%～50%，这可能因根是这类植物的库的缘故。许多实验中观察到高 $CO_2$ 导致 C/N 比的增加。显然氮素不足的条件会使这种改变加速。C/N 增加反映在农作物的籽粒上使品质下降，叶片 C/N 比的增加也使草食类动物尤其是昆虫的食量加大，这对生态系统的平衡可能有不小的影响。还有研究发现豆科植物在 $CO_2$ 倍增时根系的 C/N 比明显降低，似乎是根系固氮产物不能及时向地上部转运所致。

**2. 对共生固氮的影响**

植物与微生物的共生固氮在自然界氮素循环中起着重要作用。共生固氮依赖于植物光合作用提供能量、还原能力和接受固氮产物的碳架。高 $CO_2$ 导致的光合产物的积累以及根/冠比提高、碳/氮比的改变都会影响共生固氮活性和总固氮量的增加。

**3. 对土壤微生物群落与活性的影响**

高 $CO_2$ 影响土壤微生物的群落与活性，其中尤以与植物营养吸收关系极密切的菌根的影响最重要。已有的观察显示菌根对根系的浸染率在高 $CO_2$ 条件下与低 $CO_2$ 持平或稍有增加，但因根系总量

的增加，单株植物的菌根侵染率就随之加大。

## （三）大气 $CO_2$ 升高的非光合作用效应

与高 $CO_2$ 对光合作用的影响相比，人们对高 $CO_2$ 的非光合效应的研究远不够重视，但非光合作用的效应无论对植物本身还是对生态系统的作用都不亚于光合作用的效应。

**1. 蒸腾作用与水分利用效率**

植物对高 $CO_2$ 的反应除光合作用的增加之外，最重要的莫过于对气孔开度和水分利用效率的影响了。知道 $CO_2$ 浓度影响气孔开度的事实已一百年了，但其机理至今还不够清楚。表 19-9 列出一些 $C_3$ 和 $C_4$ 植物在 $CO_2$ 倍增条件下水分利用率改变的情况。表中的结果显示 $CO_2$ 倍增导致气孔部分关闭，植物的水分利用效率大幅度提高。这种水分利用率的提高对未来生态学的意义显然是巨大的。

**表 19-9　水分利用效率**（mg $CO_2$/g $H_2O$）

| | 植物 | $1\times CO_2$ | $2\times CO_2$ | | 植物 | $1\times CO_2$ | $2\times CO_2$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $C_3$ | 棉花 | 8.44 | 15.7 | $C_4$ | 玉米 | 6.64 | 10.27 |
| | 大豆 | 9.5 | 19.3 | | 苋菜 | 10.8 | 21.7 |
| | 白菜 | 6.54 | 21.54 | | 高粱 | 26.0 | 37.0 |

**2. 叶温增高与发育加速**

在高 $CO_2$ 条件下植物的叶温上升，这与气孔开度减少及蒸腾失水减少有关。小麦叶片温度在倍增的 $CO_2$ 中可提高 0.6 ℃，且其成熟期提前了 2～3 天。植物叶温增高与发育加速对未来的农业生产可能有巨大的影响，对天然植被及其对大气的反馈影响也是不容忽视的。

**3. 对呼吸及黄化苗生长的影响**

$C_3$ 植物的光呼吸作用较强，有时消耗达到光合同化产物的 50%。Rubisco 是羧化-加氧酶，$CO_2$ 浓度升高可降低光呼吸和增加羧化固碳。高 $CO_2$ 浓度可使 $C_3$ 植物的净光合增加，其中包括光呼吸减少的贡献。

表 19-10 的结果显示高 $CO_2$ 明显促进种子的暗萌发及黄化苗的生长，发芽种子剩余的重量在高 $CO_2$ 下减轻表明发芽过程中储存物质转化得更快。进一步的实验还发现上述实验材料籽粒暗萌发时高 $CO_2$ 对呼吸有明显的促进作用。这可能与前述的蒸腾效率提高导致自身温度增加有关。

**表 19-10　$CO_2$ 倍增对小麦和小黑麦种子暗发芽及黄化苗生长的影响**（播后 12 天）

| 材料 | 处理 | 茎高/cm | 单株干重/mg | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | 地上部 | 根系 | 种子 |
| 小麦(丰抗 13) | $1\times CO_2$ | 7.0 | 6.6 | 6.4 | 15.4 |
| | $2\times CO_2$ | 11.8 | 9.7 | 6.4 | 9.1 |
| 小黑麦 | $1\times CO_2$ | 5.2 | 6.0 | 8.4 | 23.0 |
| | $2\times CO_2$ | 12.0 | 10.3 | 9.2 | 14.4 |

总之，工业文明带来了环境污染，包括大气 $CO_2$ 增高、土壤及水体中的各种有机和无机污染物增加等问题，急需重视和认真研究。我们应该深信人类有能力治理并改善环境，而植物生理学的研究理应对这一伟大事业有所贡献。

**思考题**

(1) 如何理解逆境或胁迫(stress)的生物学意义？何谓生物性胁迫、非生物性胁迫？

(2) 植物是如何感知和传递逆境胁迫信号的？如何理解基因表达与细胞信号转导间的关系？

(3) 何谓植物的抗旱性、抗盐性、抗寒性？

(4) 水分胁迫对植物有那些伤害？冰冻胁迫和盐胁迫与水分胁迫有什么相似之处与不同之处？

(5) 植物对逆境胁迫的响应主要包括那些方面？

(6) 水分胁迫与盐胁迫对植物的影响有哪些异同？植物对两种不同胁迫的共同相应机制为何？

(7) 简述逆境胁迫诱导基因表达的信息传递过程。

(8) 植物是如何提高抗病能力的？

(9) 提高植物(或作物)抗逆能力的途径有哪些？

(10) 环境污染与农业生产有什么关系？

# 第五部分　植物生物技术

## 第二十章　植物生理学与生物技术

*生物技术可能是这个星球上最古老的科学。从远古时起，人类就已经开始造酒、制酪和使用迷幻剂，并且学会了如何繁育良种。*

K. W. Fuller, J. R. Gallon (1985)

从广义上讲，生物技术就是综合运用生物学、化学以及工程学等的理论知识和方法开拓与发展生物有机体在工农业生产中的应用。利用生命有机体生产人类消费品并不是近代才发生的事情，其起源可上溯到数千年前。诸如啤酒、葡萄酒、干酪及面包等利用微生物发酵工艺的生产都有古老的历史。从19世纪末开始，基本化工原料如乙醇、丙酮、醋酸等均由微生物发酵生产。到了20世纪中叶，微生物发酵已开始被用于处理污水及固体废料。而现在，微生物的大规模培养已成为生产抗生素及其他一系列商业产品的常规方法。

在远古时代，人类的祖先就已学会了如何选择高产、高品质的可食植物，开始了尝试植物育种技术以产生新的优良品种。在早期人类对植物的开发利用中，植物首先是被用作食物、燃料和制衣原材料以满足人类的最基本需要。随着时间的推移，人类逐步开始利用各种植物作为原料用以生产染料、草药、香料、化妆品、药品、橡胶、调味品、油脂、蜡等许多类产品及工业原料。

由上述可见，广义的生物技术几乎与人类文明的发展是同步的。那么，为什么生物技术直到20世纪下半叶才成为如此引人注目的领域呢？答案就在于20世纪中期分子生物学研究的突破引发了以基因工程为基础的现代生物技术的革命。DNA重组技术的进展使得不同种类、甚至远缘生命体之间的基因交换成为可能，从而可能创造出自然界从未有过的基因型或性状组合。将这些最初从实验室中发展起来的新技术用于大规模的工业开发，其经济潜力不可估量，这也正是现代生物技术的无穷魅力之所在。

植物生理学的理论知识框架及技术方法在现代植物生物技术的建立与发展中的作用是至关重要的。无论是在增加农作物的产量、提高植物的抗除草剂和抗病能力，还是在优化无性繁殖、生产生物制剂及其他植物细胞次生代谢物等许多方面，植物生物技术都不可避免地涉及生化生理与发育调控的理论知识和技术方法。

本章仅仅是简单地介绍植物生物技术的基本知识，主要目的是讨论与植物生理学密切相关的一些方面。由于近年来植物生物技术的理论和方法发展较快，有关的详细内容还请读者阅读一些专门论著。本章将简要介绍：①植物组织培养、原生质体融合、DNA重组等植物生物技术的理论基础；②植物生物技术的实际应用范例的介绍与讨论。

# 第一节　植物生物技术方法

植物生物技术的最基本方法首先是组织与细胞培养(tissue and cell culture)技术，而植物组织与细胞培养技术是近代植物生理学的最重要成果之一。由于分子遗传学和DNA重组技术的发展，植物生物技术在过去的20年间迅速地发展至新的阶段。

## 一、组织与细胞培养

组织培养，就是在人工介质载体上支持培养植物组织或器官的专门技术。早在20世纪30年代，植物科学家们就已经知道可以通过离体的小块植物组织或细胞团在人工培养基中培养获取脱分化的愈伤组织。此后的研究陆续证明，几乎任何植物组织都可在人工培养基中培养。来源于单个细胞或单一细胞群的愈伤组织可以进一步继代培养，并诱导根和芽的重新分化、最终形成完整的再生植株(图20-1)。

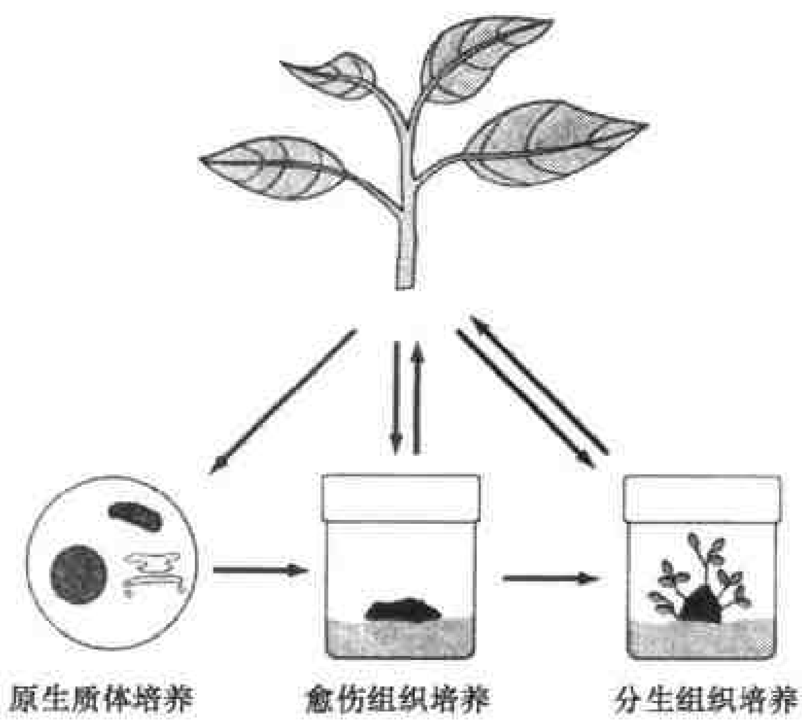



图20-1　植物细胞和组织培养示意图

植物组织培养大都使用含琼脂的固态培养基，但也能在液态培养基中进行。如果介质经过机械振荡混摇，部分细胞将被易位分离，成为独立生长的单个细胞。在合适的光、温、营养及激素条件下，细胞将可能发育成在形态学上与正常植株胚胎相似的细胞团，称为胚状体。胚状体可在适合的培养基中进一步完成生长发育过程，长成和亲本植株相同的成熟个体。通过利用液态培养基培养胡萝卜非分生组织薄壁细胞的实验工作，Stewart于1958年证实了可通过人工培养获得植物胚状体。胚状体一端分化成根原基，另一端分化成芽原基。将胚状体在固体培养基上继续培养，将分化出根和芽，并长成完整的胡萝卜小植株。进一步用适当的方法培养获得的小植株，最终可获得有肉质根并能开花结实的正常胡萝卜植株，而且由此植株收获的种子可以繁殖出与亲本一般无二的正常胡萝卜植株。这项研究为植物细胞和组织培养技术的发展奠定了基础。现在人们在组织或细胞水平上的基因转化也有赖于利用植物细胞和组织培养技术获得再生植株，并从中筛选出阳性转化植株。因此，可以毫不夸张地说，如果没有植物细胞和组织培养技术的建立及完善，利用基因工程技术开展的转基因作物研究将不可能实现。植物细胞和组织培养技术的建立以及在实践上的可行性也导致了人工种子概念及技术的提出，即不通过自然种子形成过程，而直接利用植物细胞和组织培养技术进行无性繁殖。人工种子技术无疑为经济价值较高的植物的低成本大规模繁殖提供了广阔前景。

## 二、原生质体与细胞融合

利用纤维素酶、果胶酶等细胞壁降解酶类消化分解植物细胞壁后所得的无壁球形细胞体即为植物细胞原生质体。原生质体可从许多不同植物组织分离获得，并且在多数情况下仍保持着潜在的分裂及分化能力。在条件合适的情况下，原生质体可经细胞分裂而形成愈伤组织，并分化出根和芽，最终发育为正常可育的再生植株。人们已经利用许多双子叶植物的原生质体实现了植株再生，但利用单子叶植物的原生质体却很难实现植株再生，例如利用谷类作物的原生质体至今仍未实现完整植株

的再生。

由于原生质体没有了细胞壁的约束限制，这使得人们可以根据研究目的而对无壁细胞进行适当操作，这大大方便了植物细胞生物学的许多基础性研究工作，其中最具深远意义的研究工作之一就是利用原生质体所具有的相互融合能力而开展的体细胞无性杂交研究。体细胞无性杂交使得在原本具有天然有性生殖隔离的物种之间实现杂交。此外，植物还具有通过母性遗传的细胞质(叶绿体和线粒体)基因组，其中包含如抗除草剂基因和线粒体内细胞质雄性不育基因等，通过原生质体融合所进行的新品种培育研究工作具有重要的理论价值与实践意义。利用原生质体与细胞融合(protoplast and cell fusion)技术可以方便地产生全新的核-质组合，避免了传统育种方法中漫长而昂贵的回交过程。原生质体分离及植株再生技术对目前广泛开展的植物或作物转基因研究工作也有重要意义，由于除去了细胞壁的制约，使得将外源目的基因转入植物细胞将更为便利。

## 三、DNA 重组

DNA 重组指的是将某基因组 DNA 片段插入另一基因组 DNA。事实上，从地球上开始出现由 DNA 携带遗传信息的可遗传的生命现象时起，自然条件下的 DNA 重组就随时都可能在发生。应该说，DNA 重组现象几乎与 DNA 本身同样古老。但在自然界中，只有当两个极为相似的(如同源的) DNA 分子恰巧在适当的时刻及同一细胞中相遇时，重组才有可能发生。因此，自然界中的 DNA 重组大多数发生在亲缘关系较近的物种之间，从而既保证了生物个体遗传上的保守性，同时也使得生物种群在漫长的进化过程中实现了一定的遗传性状的变化。

而现代生物技术中所说的 DNA 重组一般是指在人为控制及操作条件下实现的，是人们根据研究目的而“强制性”地在“试管”中进行的 DNA 重组操作。这种人为条件下的 DNA 重组操作能够克服自然的生殖隔离，实现对完全不同物种的 DNA 之间的重组。人们利用 DNA 重组技术，可以选择特定的 DNA 序列或目的基因插入寄主 DNA，以期按人们的愿望获得具有新的遗传性状的转基因个体(品种)。相对于传统育种技术，利用 DNA 重组技术可较快地获得有目的性状的转基因新品种。

在利用含有目的基因(外源基因)的重组 DNA 对植物进行转化的过程中，DNA 重组片段中的外源基因是由人工方法被导入寄主植株的，因此这一过程也被称作基因操纵。基因操纵技术在原理上包含三个基本组成部分(或过程)：①包含目的基因的外源 DNA 的分离及重组；②外源 DNA 与适当载体的融合构建；③利用适当方法将含有外源目的基因的载体导入被转化植株。

分离基因有两种基本方法。一种方法是将带有目的基因的 DNA 首先用限制性内切核酸酶切割成小片段(限制性片段)。所谓限制性内切核酸酶是一些从细菌中分离获得的、能识别双链 DNA 上特定序列(4～8 个碱基)并于特定位点切割的一类酶的总称。因为这类酶切割的是基因所在的整个基因组 DNA，将有可能产生大量的 DNA 片段，其中很多片段只包含基因的一部分，或者是 DNA 上的非编码区。但由于不同种细菌产生的不同专一性的限制性内切酶的种类很多，所以总会找到合适的限制性内切酶可以产生包含特定基因的限制性片段。第二种方法是首先从细胞中分离得到信使 RNA (mRNA)，然后以 mRNA 为模板、在反转录酶的催化下直接合成互补 DNA(cDNA)，每一段 cDNA 的序列都代表了一个细胞内被有效转录的基因序列。

分离得到的外源目的基因在被用于转化寄主植株前，首先要被将其插入载体。最常见的载体就是一段双链环状细菌 DNA 分子，称为质粒(plasmid)。将质粒 DNA 用与分离目的基因相同的限制性内切酶切割，产生的末端正好与包含目的基因的限制性片段的末端互补。将经酶切的质粒 DNA 与外源基因 DNA 分子混合，在 DNA 连接酶的作用下，互补配对，恢复环状结构。重组后的质粒包含着外源基因。

根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)中的 Ti 质粒是转化植物时最为常用的载体。Ti 质粒

上含有一段称为 T-DNA 的区域，感染寄主后能正常地整合进入寄主细胞基因组。在 Ti 质粒的 T-DNA 区域包含着能引起植物组织发生类似于动物恶性肿瘤性生长的基因，它能使被感染的植物组织产生"冠瘿瘤"。当 Ti 质粒被用作外源基因的载体时，其中的肿瘤基因将被外源目的基因替换。这使得细菌本身丧失了毒性，但却保留着侵染和转化寄主细胞的能力。并且，载体质粒还带有一个抗生素抗性基因，以便对被转化的细胞或植株进行选择。

利用农杆菌转化植物，既可通过将包含重组 Ti 质粒的农杆菌与植物细胞原生质体混合培养以实现对后者的转化，也可由病原物直接侵染寄主叶片组织而实现对组织内一些细胞的转化。在对原生质体转化时，先将培养好的、正进行活跃细胞分裂的原生质体接种携带重组质粒的细菌，2～3 天后，用适当处理方法杀死细菌，继续培养使原生质体发育成小团愈伤组织（microcalli）。将这些愈伤组织转移至含抗生素（如卡那霉素）的介质中继续培养，只有那些来自已被转化的细胞的愈伤组织才包含抗性基因，因此能在含抗生素的介质中存活。经过多次继代培养，有可能自愈伤组织获得再生植株，即转化或转基因植株。在对叶片组织进行转化时（所谓"叶盘法"），首先自经过表面消毒处理的叶片上用打孔器切下圆盘状小片组织（约 $1cm^2$），接种农杆菌培养物，使得细菌侵染切口表面的受伤细胞。除菌后同样用抗生素处理选择转化细胞。无论是经接种处理后的原生质体或是叶片，经培养获得愈伤组织后，下一步的处理均是控制营养和激素的平衡以诱导根与芽的形成，最终获得携带和表达外源目的基因、并能将目的基因通过正常的有性生殖稳定遗传的转基因植株。利用根癌农杆菌 Ti 质粒作为目的基因载体实现对植物的基因转化过程见图 20-2。

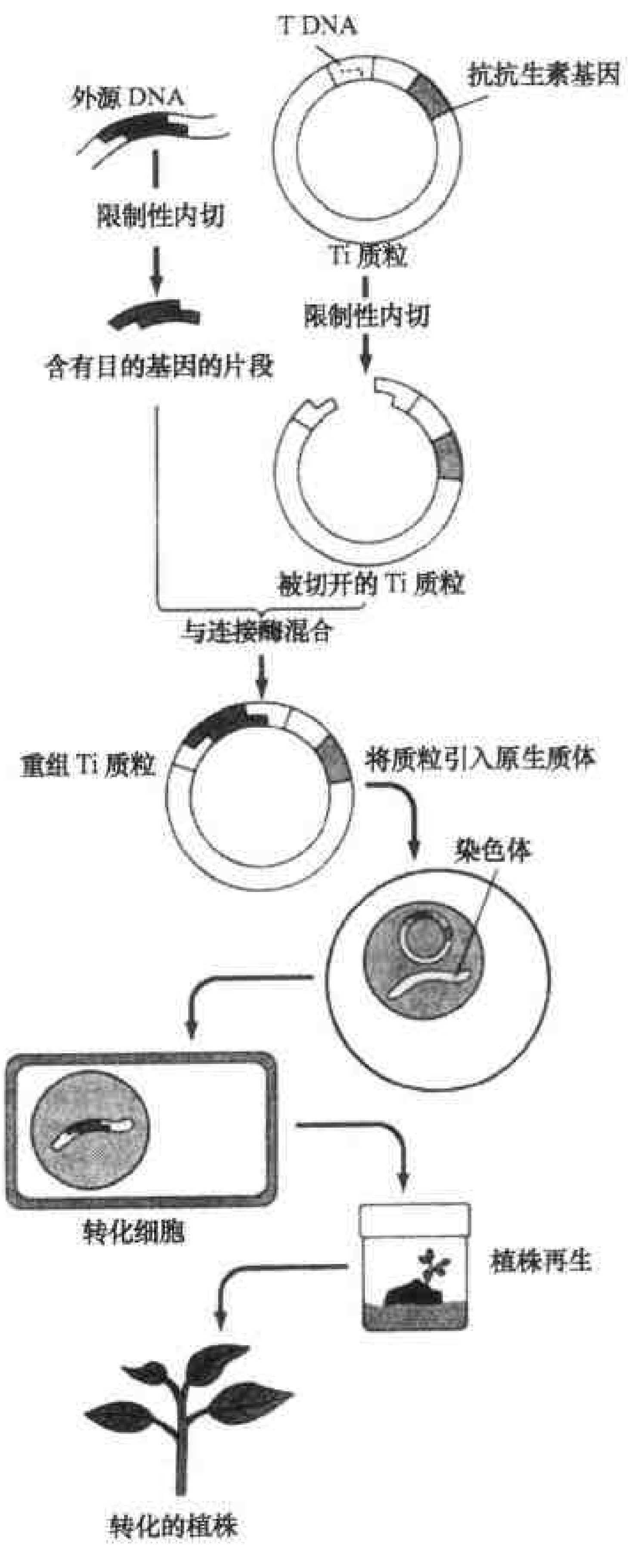



图 20-2　利用基因工程技术将外源目的基因转移至植物的过程

作为转化载体，农杆菌的主要缺陷在于它有限的寄主范围。虽然已有利用农杆菌转化单子叶植物的实验工作报道，但到目前为止，只有双子叶植物中的某些种类可以通过这种方法实现有效转化。对于难以利用农杆菌进行基因转化的植物，一般用其他较为直接的转化方法，如利用聚乙二醇（PEG）或电击处理可以诱导细胞接受外源 DNA 片段、利用显微注射方法将外源 DNA 片段直接注入原生质体或细胞、利用基因枪轰击细胞或组织等，也可获得转化植株。所谓基因枪法，是将覆有质粒 DNA 的微粒子（约 1μm）经专门的加速装置加速至 400m/s，轰击植物细胞或组织，使带有外源目的基因的微粒子穿透细胞壁而进入细胞。

## 第二节　植物生物技术进展及发展前景

从理论上讲，利用植物生物技术（包括 DNA 重组、植物细胞和组织培养等技术方法），人们可以有目的地获得各种具有一定农艺性状的作物新品种。到目前为止，人们至少已经利用生物技术在植物繁殖、杂草控制、保护作物免受病虫害、改变谷物的品质等方面取得了一些有意义的成果，有些经生物技术培育的新作物品种已被大面积推广。

### 一、微　繁　殖

植物组织培养技术的成功建立及广泛应用使得大规模地进行植物克隆（无性繁殖）成为可能。利用较少的投资与技术、材料的支持，完全有可能自单个或来源一致的少数植物细胞，或一小块植物组织培养出成千上万高质量的且具有相同遗传性状的植株，这一过程被称作微繁殖技术（micropropagation）。最常见的方法是把离体的分生组织在培养基上培养，通过控制培养基中的营养成分和激素种类及含量，限制顶端优势促进腋芽发育以得到更多的腋生枝，再将新生的分枝分割开来并分别培养，最终通过改变培养基成分诱导生根，然后移植至盆内或室外大田种植。另一种常用的方法是利用植物细胞或组织先进行愈伤组织的培养，然后诱导出根和芽并获得植株。这一技术最先被用于进行大规模繁殖一些较为名贵、且利用一般方法较难繁殖的花卉，如兰花、郁金香、百合等。

微繁殖技术也可用来脱病毒或去除其他病原体，培育出商业化的无病原繁殖体（俗称"无毒苗"）。例如，马铃薯一般是通过块茎中的腋牙来繁殖，但马铃薯块茎组织中通常多带有病毒，利用生产上的常规方法进行繁殖的同时也将病毒带至下一代植株，会造成产量下降或品质降低。但应用分生组织培养的土豆微繁殖技术已被证明是非常有效地去除马铃薯病毒的途径，由此获得的马铃薯无毒苗已被广泛应用于生产实践。

微繁殖技术现在也被广泛地应用在森林树种的生产上，主要是通过腋芽和不定芽的培养得到大量繁殖体。相似的方法也已成功地应用于各种果树（如苹果、桃、梨等）种苗的繁育。特别是对于许多仅能靠扦插而繁殖的温带果树，微繁殖技术的意义显得尤为重要。此外，诱导微小植物插条生根已经成为现在许多商业化实验室的惯用程序，如著名的花卉生产及出口国荷兰，目前每年都利用微繁殖技术生产数千万株名贵花卉。

由组织培养产生的再生植株有时在形态或生理上会表现出某种或某些变异，被称为"体细胞无性变异"（somaclonal variation）。发生体细胞无性变异的机理至今仍不清楚，但是已经知道培养条件是引起这种遗传变异的原因之一。有些体细胞无性变异具有重要的实用价值，如抗病性变异或其他一些农艺性状变异有可能对生产实践有重要意义。

### 二、植物保护

现代农业之所以达到目前如此高的生产力水平，在很大程度上依赖于控制杂草竞争以及各种病（病毒、细菌、真菌等）、虫的侵害。自 20 世纪 40 年代后期始，人们一直利用除草剂、抑制病原的农药、杀虫剂等有效控制杂草、病原菌及捕食性昆虫对大田作物的侵害。然而，大量农药的使用造成了农产品中的农药残留，同时还对农业生态环境造成了严重危害。自 20 世纪 70～80 年代以来，遗传工程技术的建立极大地推动了植物生物技术的发展。利用遗传工程技术可以有目的地改变作物的遗传性状，为获得能较少地依赖有潜在危害效应的化学控制手段来保护作物的新途径提供了广阔前景。

**1. 抗除草剂**

杂草是影响农作物生产的重要因素之一。有统计表明，在 20 世纪 90 年代中期，每年因杂草而造

成的作物减产损失超过120～150亿美元。由于作物种植者已经越来越依靠除草剂来有效地控制杂草，因此每年还得再花费80亿美元于杂草防治。作物生产中大量应用除草剂产生了一系列不良效应，其中之一是使获得抗除草剂性状的植物种类急剧上升。自20世纪60年代初起，已陆续发现了120多种植物对多种除草剂有抗性。到20世纪80年代中期，仅仅对三嗪类除草剂有可遗传抗性的植物也已达57种。

三嗪类除草剂(莠可净、西玛三嗪)的作用机制是通过与植物光系统II中的32kDa蛋白(D1蛋白)结合，从而使正常的光合电子传递被阻断而不能进行光合作用，最终导致植物死亡。三嗪类除草剂作用于植物时，主要是通过根部被吸收。有些作物(如玉米、高粱)的根组织内有合成谷胱甘肽的酶(谷胱甘肽合成酶)，谷胱甘肽可与三嗪类除草剂分子相结合，使除草剂迅速失去毒性。因此，三嗪类化合物是种植玉米、高粱等作物的重要选择性除草剂。然而，长期使用三嗪类除草剂使得原本可被杀死的一些广泛分布的杂草(如苋属杂草、藜属杂草)获得了对三嗪类化合物的抗性，即这些杂草体内编码光合系统II D1蛋白的 *psbA* 基因发生了突变，使得三嗪类化合物分子不能与D1蛋白结合而杀死杂草。研究表明，D1蛋白中一个氨基酸的变换(丝氨酸被甘氨酸所替换)可使该蛋白对三嗪类的亲和力降低1000倍。当然，如果从另一个角度分析，如果能将抗三嗪类除草剂的突变基因转移到人们所感兴趣的作物品种中，则可能对作物生产有益处。但编码光合系统II D1蛋白的基因在叶绿体基因组上，虽然理论上讲对叶绿体基因也可通过基因工程操作予以改变，但目前在技术上还存在困难。

通过基因工程技术使得作物获得对除草剂的抗性已经得到了应用。如许多除草剂的共同作用靶是植物体内的乙酰羟酸合成酶(ALS)，而发生突变的烟草 *ALS* 基因(*Hra* 突变株系)对磺酰脲类除草剂的抗性比野生型高1000倍。当将该突变基因转入某一原本不具抗除草剂性状的植物后，被转化的植株可获得对除草剂的抗性。人们已经将该突变基因导入西红柿、甜菜、玉米、苜蓿等，并已获得成功。

**2. 抗病和抗虫**

植物病害对农作物生产危害极大，在全世界范围内可使一年生作物减产约12%。虽然植物病理学家们很早以前就知道植物受到病原菌侵染后会发生病害，但直到最近的20～30年间才逐步开始了解植物与病原菌互作的分子机制。植物本身具有积极主动防御病原菌侵害的生理生化及分子机制，当植物受病原侵染时，受侵害部位立即响应并通过一系列生理生化反应来进行抵御。植物抵御病原的反应包括，通过胼胝质的沉积来增厚细胞壁和木质化以达到防止进一步被侵染或病原扩散、合成抗病原微生物的抗毒素以杀灭病原菌、分泌降解酶以抵抗入侵的病原体等。而且植物还具有更广泛防御能力的机制，即系统获得性免疫系统(SAR)。

植物的系统获得性免疫系统理论上与人类的免疫系统相似。植物在受到病原侵染时，体内会被诱导生成所谓病程相关蛋白[pathogenesis-related (PR) protein]。植物一旦受到过某种病原体的侵害，局部组织产生的PR蛋白会迅速使植物整体都具有一定的抵抗同种病原的免疫力，同时也使植物获得抵御同种病原再次侵染的免疫力，即系统获得性抗性。植物的系统获得性抗性也能由某些内源或外源的化学物质所诱导，如植物自身可以合成的水杨酸或人工合成的化合物。水杨酸是一种类似阿斯匹林的化合物，在植物中含量很低，且易通过韧皮部在植物体内转移。当烟草接种了烟草花叶病毒(TMV)后，水杨酸的水平在接种的叶子中提高了20倍，而没感染的叶子中也提高了5倍，相应地PR蛋白的含量也增高。因此，水杨酸被认为是植物体内引起系统性防御的信号物质。

一系列与PR蛋白合成有关的mRNA的转录也作为启动SAR的标志，如直接指导合成几丁质酶(该酶催化水解几丁质)的基因的转录。几丁质是一种以α-1,4糖苷键连接的 *N*-乙酰-D-葡萄糖胺高聚物，是丝状真菌和昆虫外骨骼的重要成分。当真菌侵染植物时，植物体内的几丁质酶水平，特别是在液泡和胞外空间中有明显提高。从菜豆中分离得到的几丁质酶基因已被成功地转入烟草和油菜

内，转基因植物表现出对土壤中真菌类病原体抗性的提高，如感染幼苗的死亡率降低、发病期延迟且病害减轻等。

另外一条提高植物抗性的途径是对植物进行“疫苗接种”。一个成功的例子是利用 Ti 质粒作为载体，将 TMV 病毒的外壳蛋白 cDNA 转移到培养的烟草细胞中。转基因植株及其后代细胞中能表达 TMV 外壳蛋白，使得转基因植物不易感染 TMV 病毒。实验证明，在这些转基因植物中有超过60%的不产生病症，而那些表现病症的转基因植株其病症也较轻微或推迟出现。尽管人们还并不清楚植物细胞内表达的外源病毒外壳蛋白是如何使植物免受病毒感染的，但这一方法却已被有效地用来保护像西红柿、苜蓿、水稻等作物。

迄今为止，已有很多种通过 DNA 重组技术改造过的作物品种被大面积推广栽培。改造后的植物具有耐除草剂或抗病虫的优势，而且一些品种（如油菜）也带有提高种子油含量的基因，或如玉米、水稻、大豆、向日葵带有增强种子贮存蛋白能力的基因等等。

## 三、植物代谢

植物生物技术最早向人们展示的美好前景之一是用于提高作物的产量。在过去的半个世纪中，在作物育种上被广泛应用的杂交技术大大地提高了栽培作物的产量以及改良了谷物的质量，这一被称为“第二次绿色革命”的杂交育种技术为保证人类不断增长的对粮食的需求无疑已经起到了至关重要的作用。对于作物良种的进一步改良，人们现在寄希望于遗传工程的应用。

在利用遗传工程技术改进作物产量的研究方面，改变光合作用中的某些过程以提高植物合成净的碳水化合物的能力一直是植物生物技术工作者们所极为关注的课题。例如，人们曾经试图利用基因工程的手段来降低核酮糖二磷酸羧化酶-加氧酶的加氧催化能力，同时保证不降低羧化酶的活性，以此来降低碳水化合物消耗，从而提高碳水化合物的净增加。类似的探索途径还包括如何降低维持性呼吸作用对碳水化合物的消耗。当然，光合和呼吸代谢的过程均非常复杂，不仅这两种过程之间存在复杂的相互作用，而且还与氮、硫的同化作用以及其他许多重要代谢途径相关联。影响植物体内碳水化合物净增加的遗传基因有许多种。而且，人们目前对这些过程的生理生化机制的了解仍远远不够清楚，也许只有等到对这些代谢过程有更为彻底的了解和基因工程的技术方法也有了进一步发展之后会有可能获得突破性进展。

在植物的氮代谢方面，人们也一直在探索是否可以通过遗传工程技术改造作物，使非豆科作物也能像豆科植物一样具有与固氮细菌共生并利用细菌自大气中直接固氮的能力，从而大大降低人工氮肥的施用量。然而豆科植物与根瘤菌的共生固氮作用过程涉及到两种不同生物及其相互作用，与这一过程相关的许多基因也分别来自这两种不同生物体，过程的复杂性是显而易见的。但随着分子生物学研究的进展，科学家们正在逐步详细地探索及揭示生物固氮的分子机理。当对根瘤菌和豆科寄主植物之间的复杂关系有了更深人的了解后，将有可能通过遗传工程的改造实现使非豆科植物具有固氮能力的诱人目标。

## 四、植物产品

植物除了是人类食物、衣物材料的主要生产者外，还是人类活动所必需的能源等多种原材料的生产者。

**1. 燃料**

现代人类活动所必需的能源燃料主要是石油、煤和天然气，而这些燃料都是远古时代由植物转化太阳能而储藏的能源（所谓植物“化石”）。随着工业的不断发展对更多能源燃料的需求，地球上由植物形成的石化燃料的储备正迅速地减少，在不远的将来有被消耗贻尽的可能。植物通过光合作用将

大量的太阳能转化为化学能，可以说绿色植物是人类利用太阳能的最佳转化器。科学家们一直在不断地探索是否可以人工模拟绿色植物的光合作用而有效地利用太阳能，人们希望在将来有一天能通过化学模拟而实现这一目标。

地球上植物的有机物产量非常巨大，人们所直接利用的植物产品（如谷物籽粒、果实等）只占植物总生物量的很小一部分，而植物总生物量中的大部分被当作废物（未被开发利用的植物残骸）。如果在技术上可行的话，利用这些植物残骸可以获得大量的能源，如将植物残骸石油化生产石油或气化而生产可燃有机气体。然而，将植物残骸石油化或气化需要在高温、高压、低氧条件下进行，如气化需要在低氧和超过 1500℃的条件下进行。因此，技术上的限制使得目前人类利用植物作为能源的实践还非常有限。

但利用各种生物技术的方法，人类一直在努力尽可能利用各种植物残骸这一地球上的能源宝库。如植物残骸中的碳水化合物（主要是纤维素）可在缺氧条件下通过细菌被分解转化为甲烷与二氧化碳的混合气体（二者的体积比例约为 2∶1）。含淀粉较多的植物产品（如谷物籽粒）可通过酵母菌的发酵作用而被转化为乙醇，而乙醇是较为理想的液体燃料。甘蔗是光合效率较高的作物，能最有效地转化太阳能而在体内大量合成碳水化合物，因此也是酒精发酵较理想的原料。巴西的酒精发酵业处于世界领先地位，到 20 世纪 80 年代中期，巴西利用甘蔗生产酒精的产量已达这个国家所需液体燃料总量的 20%以上。利用甘蔗发酵生产酒精的过程也是综合利用植物能源的很好例子，在发酵过程中产生的大量蒸汽可用来发电，而发酵后的残渣可以被送往发电站用作燃料而产生更多的电力，这些电的一部分又可用来生产甘蔗所需的化肥。虽然酒精中蕴藏的能量比石油（原油）的能量小，但是石油是不可再生的，而用于生产酒精的甘蔗或其他作物却在生产上具有可再生性，这对于在一定程度上缓解能源愈来愈短缺的问题有重要的战略意义。

各种植物或作物籽粒中所含的油类物质是另一重要的燃料来源，如向日葵种子的含油量达 40%～50%，所以可被直接用在农业机械上而取代柴油。植物油类物质的化学还原程度远超过酒精，因此其能量蕴藏量和石化燃料相当。大部分植物油由于是三酰甘油而不能直接作为能源，因此必须先将其分解为脂肪酸和甘油。使用植物油代替柴油有其优点，一是植物油是可再生资源，其次是蕴含能量较高且燃烧更彻底。

**2. 其他植物产品**

在植物所能生产的各类物质中，受人类关注的主要是碳水化合物（如淀粉、糖、植物纤维等）、蛋白质（氨基酸）、油脂三大类物质。事实上，植物的代谢活动还产生许多类物质尚未被人类充分利用。如植物的次生代谢产物，包括生物碱、药物、树胶、树脂、精油以及一些人类尚不了解的化学物质。这些产物中有些已被人类利用了数个世纪，如在中国，植物作为药物的历史可追溯到公元前 2700 年；在美国，1820 年的《美国药典》所列的药物中有 70%来自植物。甚至在以合成药物为主的今天，临床上使用的药物中仍有约 25%是从植物中提取出来的，而且人类还在不断自植物中开发出许多不可替代的重要药物。特别是在最近的几十年间，人类已经认识到利用植物体内的一些天然产物治疗人类的一些重要疾病（如癌症、心脏病甚至艾滋病等）有着巨大的潜力。如从红豆杉树皮中提取的紫杉醇（一种双萜类化合物）已被证明对治疗乳腺癌、卵巢癌等有特殊疗效，紫杉醇作为药物已被某制药公司申请专利。与化学合成药物相比，植物次生代谢产物作为药物的独特优点是副作用微乎其微。而且疗效往往更显著。目前，世界上许多大的药物公司正在投巨资于生产天然植物药物的生物技术研究，其中最诱人的是利用植物细胞和组织培养并结合基因工程技术建立所谓“植物生物反应器”。植物生物反应器是指以工业化生产为规模的植物细胞和组织培养技术，而且有目的地使被培养的细胞或组织较多地产生某种或某些特定的有应用价值的物质。例如，可以将植物细胞有目的地进行基因工程改造，使其能较大量地产生某种药用物质，然后利用植物细胞悬浮培养技术在类似于“发酵罐”中的大型容

器中进行培养，并不断自细胞中或细胞分泌物中提取所需产物。

**思考题**

(1) 什么是生物技术？原始的生物技术与近代生物技术的主要区别是什么？

(2) 试阐述利用基因工程技术实现大田作物生产中杂草控制的原理与过程。

(3) 植物的“系统获得性免疫”指什么？植物的这种特性如何使植物有效地抵御病原的二次侵染？

(4) 根据植物生物技术的发展趋势，你认为植物生理学的理论和方法将对植物生物技术做出哪些可能贡献以及产生哪些可能影响？

# 第二十一章 模式植物拟南芥

自20世纪70年代以来，由于分于遗传学理论与方法的广泛应用，植物生物学基础理论研究产生了突破性进展。在此期间，模式植物拟南芥作为实验材料的广泛应用功不可没。目前，拟南芥已被广泛地应用于植物生物学研究的各个领域，包括发育、代谢、遗传、信号转导、环境适应性、植物与微生物的互作、等等。作为典型的高等植物，拟南芥被用于实验室研究中的模式材料具有其他高等植物无可比拟的优点，已被公认是25万余种高等植物中迄今为止的最好模式材料。特别是作为第一个已完成基因组全序列物理图谱的高等植物(2000年12月14日国际拟南芥组织已公布拟南芥基因组的全序列物理图谱)，无疑将在今后植物生理学的研究中发挥更重要的作用。本章将扼要介绍拟南芥的生物学特性、拟南芥突变体的筛选及突变基因克隆、拟南芥的基因转化、实验室条件下的栽培管理等内容。

## 第一节 拟南芥的生物学特性

拟南芥的独特生物学及遗传学特性是其作为模式植物被广泛应用于植物科学研究的根本原因。

### 一、拟南芥的一般生物学特性

**1. 形态学描述**

拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)为十字花科拟南芥属，一年生细弱草本植物(图21-1 A，见书末彩图)。株高15～30cm，随生长环境或培养条件变化。基生叶多数，长圆形或椭圆形，呈莲座状排列。茎生叶具短柄或无柄。总状花序顶生，花瓣白色；雄蕊6枚，花药黄色；雌蕊圆柱状。长角果线形，长约10～16mm，成熟时开裂。种子呈卵形，长约1mm，成熟时红褐色。有关拟南芥的各种形态特征、形态发生及个体发育的过程等在许多文献中已有很详尽的描述，为研究人员利用拟南芥为实验材料提供了很好的基础和方便。

**2. 个体小、易于栽培管理**

与其他大多数高等植物相比，拟南芥的个体较小。成熟个体株高在15～30cm之间。由于个体小，很容易在面积有限的温室或人工气候室内大批量地种植。特别是对于一些有特殊要求的研究工作，甚至可以在培养器皿中完成生活史(如有时需要在无菌条件下进行培养等)。而且，拟南芥对生长条件的要求并不十分严格(见第四节“拟南芥种植培养的一般方法”)，这一特点使得在实验工作中很容易实现拟南芥的栽培管理。

**3. 生长周期较短**

在一般的温室或人工气候室条件下，从拟南芥种子的春化至第一批角果成熟大约需8周左右时间。当然，也可以通过改变生长条件以达到使拟南芥提前或推后开花结实的目的。如延长每天的光照时间，可使拟南芥明显地提前开花结实，利用每天接近24小时的光照条件培养，甚至在6周左右即可收获第一批成熟角果。拟南芥的这一特性使实验工作周期大大缩短，特别是对于许多遗传分析工作，比利用一般的高等植物材料(如麦类、豆类作物)可以成倍地节约时间。

## 二、拟南芥的普通遗传学特性

**1. 既可自交、又可人工杂交**

在自然条件下，拟南芥是典型的自交繁殖植物，这使得拟南芥在种植繁种过程中得以保持其遗传上的稳定性。同时在实验过程中，根据研究目的又可方便地实施人工杂交，使得遗传分析工作很容易完成。

**2. 种子结实量大**

虽然拟南芥植物个体较小，但其种子结实量非常之大。一个角果可结实数十至上百粒种子；在生长良好的情况下，单株结实量可达上万粒之多！这使得很容易进行后代的遗传分析工作，也很容易扩增所需突变体的种子库。

**3. 容易被诱变产生所需突变体**

拟南芥在正常条件下通过自交产生后代，在遗传上表现出较高的稳定性。但拟南芥在特殊条件处理后较易发生突变，如利用物理的（如辐射处理）、化学的（如 EMS 处理）、及遗传转化（如 T-DNA 插入）等方法进行人工诱变处理，可获得具有各种不同表型性状的突变体。利用这些人工诱变方法产生的突变是随机的，可进一步通过对突变体库的有目的筛选而获得所需的突变体。

**4. 染色体结构**

通过对细胞周期的中期（metaphase）染色体观察，可以清晰地辨认单倍体拟南芥有 5 条染色单体（2 倍体为 10 条染色体）。对拟南芥遗传图谱的连锁关系分析，也证实了单倍体拟南芥包含 5 个遗传连锁群。除去着丝粒、端粒等区域及一些重复序列，目前已经完成测序的第一条至第五条染色体的 DNA 序列长度依次为 29.1 Mb、19.6 Mb、23.2 Mb、17.5 Mb、26.0 Mb（总长为 115.4 Mb），而包括所有序列在内的拟南芥单倍体基因组总长约为 125 Mb（注：此数据为 2000 年 12 月 14 日《自然》杂志公布的数据，随着拟南芥基因组物理图谱的进一步完善，这些数据可能会略有变动。）

## 三、拟南芥的分子遗传学特性

**1. 基因组小**

虽然前面已列举了拟南芥的许多普通生物学和遗传学特性，而拟南芥的这些特性使拟南芥作为模式材料具有无可比拟的优点，但拟南芥真正被广泛接受作为植物科学基础研究的模式材料还主要在于它独特的分子遗传学特性。在目前已知核基因组大小的高等植物中，拟南芥的核基因组最小，单倍体基因组 DNA 序列总长仅为约 125 Mb。表 21-1 比较了一些常见植物种类的单倍体基因组大小。由于拟南芥的基因组小，使得基因库的构建和筛选等过程简单、快速，也大大节约了研究工作的人力和物力。

**表 21-1　几种常见植物的单倍体基因组大小比较**

| 学　名 | 中文常用名 | 单倍体基因组/(Mb/1c) | 学　名 | 中文常用名 | 单倍体基因组/(Mb/1c) |
|---|---|---|---|---|---|
| *Arabidopsis thaliana* | 拟南芥 | ～125 | *Zea mays* | 玉　米 | ～2000 |
| *Oryza sativa* | 水　稻 | ～450 | *Gossypium hirsutum* | 棉　花 | ～2200 |
| *Phaseolus vulgaris* | 菜　豆 | ～640 | *Nicotiana tabacum* | 烟　草 | ～4400 |
| *Lycopersicon esculentum* | 番　茄 | ～1000 | *Triticum aestivum* | 小　麦 | ～16 000 |
| *Glycine max* | 大　豆 | ～1100 | *Lilium daviddi* | 百　合 | ～123 000 |
| *Brassica napus* | 油　菜 | ～1200 | | | |

注：几种其他重要模式生物的单倍体或单拷贝基因组大小分别为：大肠杆菌，～4.2 Mb；酵母，～13 Mb；果蝇，～140 Mb；人类，～3300 Mb。

**2. 重复序列少**

拟南芥基因组小的主要原因是重复的 DNA 序列少，大约 80%左右的序列是用来构建单拷贝基因的。由于基因组中大多数编码某一特定功能产物（如某种酶）的基因拷贝只有一个，当某一基因发生突变（如在人工诱导条件下发生突变）后由于得不到补偿就会导致与该基因的功能相关的形态、生理生化过程、生长发育性状方面的变异，这也是为什么拟南芥容易被诱变产生突变体的原因。由于重复序列少，使得相关的研究工作也变得简单、快捷。

**3. 容易实施转化**

拟南芥的基因转化可以很方便地利用土壤农杆菌（*Agrobacterium tumifaciens*）转化系统进行。目前大多数拟南芥的基因转化工作都采用"真空渗入法"（vaccum infiltration）。大致过程是：将已经抽薹但尚未开花的拟南芥植株的花序部分浸入经目的基因转化的农杆菌培养液中，在施加一定强度的真空压力条件下处理一定时间；将被处理后的植株继续培养并收获种子；利用含抗生素的培养基筛选阳性转化植株供研究使用。利用此法转化拟南芥的转化率较高，常可以达到 1%（即后代中阳性转化植株所占比例）甚至更高。实际上，由于拟南芥的种子结实量大，即便转化率低一些，也还是很容易从大量的后代中筛选获得转化植株。详细过程参见本章第三节。

正是由于以上一些拟南芥的独特生物学特性，使得拟南芥成为最为广泛采用的模式植物材料。而也正是由于众多研究者利用拟南芥为材料从不同的研究目的出发开展各种研究工作，使得到目前为止有关拟南芥形态、生长发育、遗传等方面累计的资料和信息非常之多，已有许多针对拟南芥材料特点的各种实验技术和方法可供应用或借鉴。特别应提到的是，拟南芥的基因组全序列图谱（物理图谱）已经公布，可以非常方便地通过互联网而随时使用；各种基于拟南芥遗传图谱的已知分子标记也已经很多，而且还在不断地增加，这对于目的基因的图位克隆（map-based cloning）是非常有用的。对于植物生理学工作者而言，主要的研究内容就是研究植物的"功能及其调控"，随着功能基因组时代的来临，植物生理学工作者可以充分利用拟南芥这一理想模式材料及其有关信息，在分子水平上进一步深入地探讨植物生长发育及其调控的奥秘。

## 第二节　拟南芥的诱变、突变体筛选及基因克隆

在上一节中已经谈到，拟南芥很容易被诱变产生所需突变体。所谓突变，是针对形态、生长发育进程、特定性状等发生可观测或检测到的变异而言的。如有关开花突变体，可能是由于开花的时间提前或推迟、或对栽培条件的要求发生变化等。如有关盐胁迫的突变体，可能是对盐胁迫变得更加敏感或更加不敏感等。一种可以稳定遗传的突变现象（或性状）的产生，可能是与该现象（或性状）密切相关的关键基因发生变异所致。如果经过诱变、筛选及遗传分析，获得了与某一目的性状相连锁的拟南芥单基因突变体，则利用该突变体可以克隆目的基因。

### 一、拟南芥的诱变

拟南芥的人工诱变可利用物理的（如辐射处理）、化学的（如 EMS 处理）、及遗传转化（如 T-DNA 插入）等方法进行。下面仅就在普通实验室条件下很容易进行的化学诱变和 T-DNA 插入诱变方法作简单介绍。

**1. 拟南芥的化学诱变方法及简要过程**

(1)诱变　称取大约 250 mg（约 12 500 粒；每 1 克拟南芥种子约 50 000 粒）野生型拟南芥种子置于 50 ml 烧杯内，加入 25 ml 重蒸馏水室温下搅拌 30 分钟，在 4℃下放置 12 小时以浸种；然后将种子转移到盛有 30 ml 磷酸缓冲液（100 mmol/L，pH6.5）的 100 ml 三角瓶中，加入 0.2%(*V*/*V*)的乙酰

甲基磺酸(ethyl methanesulfonate,EMS),封口后置于水浴振荡器上,25℃下振荡 12 小时;然后用 50 ml 重蒸馏水漂洗种子 4 次,每次 15 分钟。将漂洗后的种子置于 4℃ 下春化 3 天后种植。经 EMS 诱变处理后的种子为 $M_1$ 代。

(2)播种　可将春化后的 $M_1$ 种子直接播于预先浸湿的营养土与蛭石的混合物中,种子播于混合土的近表面(切忌深播)。为保证出苗整齐,每一位点可播 2 粒种子。

(3)培养条件　培养室温度以 20～22℃之间为宜(勿超过 25℃),黑暗/光照周期为 12/12 小时或 10/14 小时,光照强度为 80～120 $\mu$mol/($m^2$ · s)。在播种后的前 3 周内,尽可能将培养室的相对湿度控制在不低于 75%的水平,以利于种子发芽及出苗。待幼苗长出 2 对真叶后,可适当进行间苗使植株间有一定间隔距离,以保证植株个体生长健壮、结实饱满。但特别应注意的是,应保证植株总数不少于 5000 株。有人曾经作过推算认为,当经 EMS 诱变的 $M_1$ 代植株不少于 5000 株时,理论上推算其后代($M_2$)种子库中能保证有使每一个基因至少发生一次突变的机会。

(4)收获种子　大约在培养 8～10 周后,$M_2$ 种子陆续成熟。为能保证 $M_2$ 的发芽率,最好是随着种子的陆续成熟而分期收种。收种前应将所有植株进行编号,然后将所有植株分为若干组,收种时可将一组内所有植株的种子混合收获。如将 5000 株 $M_1$ 代植株分为 50 组,每组 100 株,以每 100 株为单位混合收获种子。这样做的工作量较单株分别收获种子的工作量大大减少。将收获的 $M_2$ 种子保存在阴凉干燥处供筛选突变体使用。

**2. 拟南芥的 T-DNA 插入诱变方法**

(1)原理　将一段外源的 DNA 片段随机地导入植物基因组中,而这段外源的 DNA 片段插入的位点正好位于拟南芥自身的某个功能基因序列内,后者的功能则可能由于外源 DNA 片段的插入而丧失。如果该基因的功能与植物的某一性状表达相关,则该基因功能的丧失就很有可能导致转化植株的性状发生变异(突变)。利用适当的突变体筛选方法,可自转化植株的后代中将发生变异的植株(突变体)分离出来供进一步的研究使用。

(2)过程　如图 21-2 所示,利用构建好的含有抗抗生素标记的农杆菌质粒 DNA(T-DNA)转化农杆菌,再将转化后的农杆菌大量培养后利用"真空渗入法"转化拟南芥(见前述)。将被实施转化处理后的植株继续培养并收获种子,利用含抗生素的培养基对所收获种子进行筛选,挑选能在选择培养基上正常萌发生长的幼苗($T_1$ 代)继续培养并收获种子($T_2$ 代)。根据研究目的确定适当的筛选条件,对 $T_2$ 代植株(大多在幼苗阶段)进行筛选。如要筛选抗盐突变体,可在含有一定盐浓度(能显著抑制作为对照的野生型幼苗生长的盐浓度)的培养基上对 $T_2$ 代幼苗进行筛选,挑选能在盐胁迫条件下较野生型生长表现良好的植株(可能的突变体)转移至正常培养条件下继续培养并收获种子。对这些可能的突变体作进一步的遗传分析及分子生物学检测以进一步确认是否为所需的突变体。

另外,也可以采用对正在萌发的种子直接实施转化的方法:利用构建好的农杆菌直接浸染正在萌发的拟南芥种子,对浸染后的种子直接在含抗生素的培养基上进行筛选获得转化植株

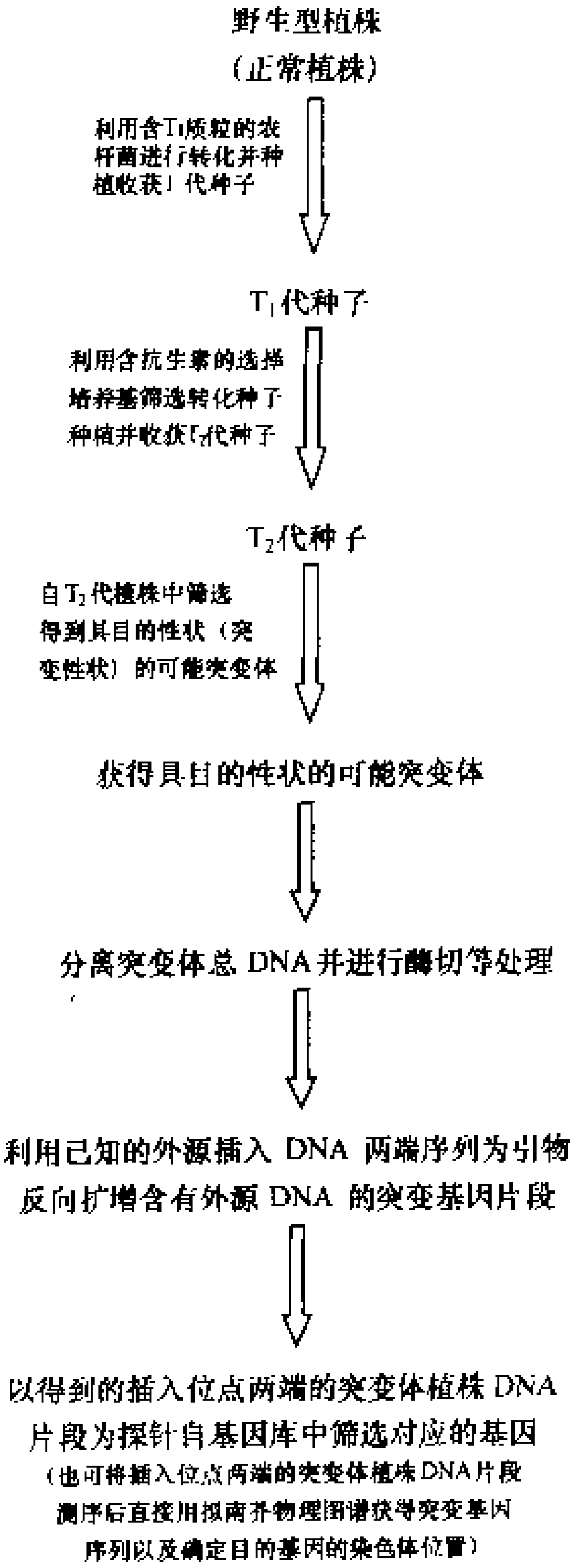



图 21-2　利用 T-DNA 插入突变体克隆目的基因的流程示意图

($T_1$ 代);将转化植株继续培养并收获种子($T_2$ 代),自 $T_2$ 代幼苗中筛选所需突变体。

### 3. 化学诱变方法和 T-DNA 插入诱变方法的比较

化学诱变方法的优点是诱变率较高,诱变的操作过程也比较简单;而主要缺点是在筛选获得所需突变体后的基因克隆的工作比较困难,需要经过染色体步移(chromosome walking)来逼近目的基因、最终完成基因克隆。当然,随着分布在拟南芥 5 条染色体上的已知分子标记数量逐渐增多、以及拟南芥基因组全序列测序工作已经完成,现在进行染色体步移的工作较之以前已经变得快捷了。利用 T-DNA 插入诱变方法的主要优点是,作为插入拟南芥核基因组的 T-DNA 序列是已知的,因此以插入片段两端的已知序列为"标签"(tag)可以很方便地定位并克隆目的基因。而 T-DNA 插入诱变方法的缺点是,诱变率较低,而且需要构建数量较大的诱变种子库等。在利用两种不同方法所产生的诱变种子库筛选所需突变体时的过程和工作量则无太大差别。

## 二、突变体的筛选及遗传分析

自诱变种子库(上述经化学诱变后的 $M_2$ 代或经 T-DNA 插入诱变后的 $T_2$ 代)中筛选所需的突变体是工作量较大、且十分繁杂的工作。而其中最关键的则是筛选条件和突变指标的确定。

### 1. 筛选条件的确定

一般来讲,所谓突变体的筛选条件是相对于野生型的正常培养条件而言的。对于在正常培养条件下肉眼直接可观察出的形态发生变异的突变体(如叶片、花器官等的形态变异等),筛选工作相对简单一些,但也应注意可能有一些形态变异的突变体是在特定条件下才表现出来。对于与生长发育相关的突变体,其突变性状的表现可能和培养条件有关,如抽薹或开花的早晚等。对于筛选具有特定目的性状的突变体,则应根据目的性状表达所需的条件来确定筛选条件。

下面以筛选"抗盐胁迫"和"对盐胁迫敏感"的突变体为例说明如何确定筛选条件(又称"筛选压力"),亦即利用野生型拟南芥作为参照来确定其抗盐或对盐敏感的临界盐浓度。配置含不同盐浓度的培养基(如 MS 培养基),将经化学诱变后的 $M_2$ 代或经 T-DNA 插入诱变后的 $T_2$ 代种子播于(或将幼苗移植于)培养基上培养,在培养过程中不断注意仔细观察不同强度盐胁迫对幼苗生长的影响。经一定时间培养后,分别确定野生型幼苗生长未受到明显影响的最高盐浓度和野生型幼苗生长受到显著影响的最低盐浓度。经重复该实验数次后,如果实验结果重复性良好,可将野生型幼苗生长未受到明显影响的最高盐浓度作为筛选对盐胁迫敏感的突变体的筛选条件,而将野生型幼苗生长受到显著影响的最低盐浓度作为筛选抗盐突变体的筛选条件。以筛选抗盐突变体为例,确定筛选时的盐胁迫强度(盐浓度)的原则是:一方面要保证所用盐胁迫强度能使所有作为参照的野生型拟南芥植株的生长都发生可观测到的影响(如生长受到明显抑制等),即在一定范围内尽可能使盐胁迫强度较高;而另一方面又要保证使经化学或 T-DNA 插入诱变的突变库中所有可能的抗盐突变体的生长都不会受到明显影响,即在一定范围内尽可能使盐胁迫强度较低。这样就既保证了不会有野生型和突变体库中非抗盐植株被误认为是抗盐突变体,又保证了使所有(或尽可能多的)抗盐突变体植株能被挑选出来,达到有效地区别野生型与可能的突变体的目的。可见,筛选条件的确定对能否有效地筛选到所需突变体是至关重要的。对上述筛选抗盐突变体时的盐胁迫强度的确定,仅仅根据上述的"临界浓度"也许还不一定适宜,还需结合筛选所用的指标对所确定的盐浓度在一定范围内进行增减,以保证筛选更加有效。

### 2. 筛选指标的确定

用何种指标来作为判别突变体与野生型之间的区别同样是十分关键的,而且与上述"筛选压力"是密切相关的。如果所需的目的突变性状本身就是和形态变异有关的(如叶、花器官等的形态发生变异),筛选的指标自然也就是相关的形态变化。而对于和生理生化或生长发育过程相关的突变体,就需要确定适当的指标来区别突变体与野生型之间的差异。下面以筛选"钾高效"(或"耐低钾")突变体

为例说明如何确定筛选的指标。野生型植株的正常生长需要一定浓度钾元素的供给，当培养基中的钾低于一定浓度时，野生型植株的生长就会受到抑制，而幼苗根的生长对缺钾胁迫是比较敏感的，所以采用"根的向地性弯曲生长"为指标进行筛选。首先将在正常条件下培养数天的幼苗转移至含"低钾固体(琼脂)培养基"的培养皿中(培养基中"低钾"浓度的确定参见前述"筛选条件的确定"部分)，将培养皿垂直放置使幼苗根尖向上，如果幼苗仍能继续生长，由于根的向地性生长特性，生长的部分发生向下弯曲的现象，反之亦然(图 21-3)。这一方法非常灵敏，而且易于观察，特别适用于对根生长有显著抑制作用的筛选条件。当然，可以根据研究目的及筛选条件的不同确定不同的筛选指标。特别需要指出的是，对于筛选不同性状的突变体，可能往往要选用不同的生长指标。例如上述"根的向地性弯曲生长"指标对于筛选钾高效突变体而言是非常有效的方法，但对于筛选"磷高效"(或"耐低磷")突变体则并不可行，因为缺磷的条件不但不能使拟南芥幼苗根的生长受到抑制，反而却受到一定程度的促进。而筛选磷高效突变体以地上部分的生长状况变化为指标可能较为适当，包括幼苗叶片的生长快慢、叶片的颜色变化等。总之，筛选突变体的指标应根据研究工作的实际情况而确定，有时还需要反复摸索才能找到灵敏有效的指标。

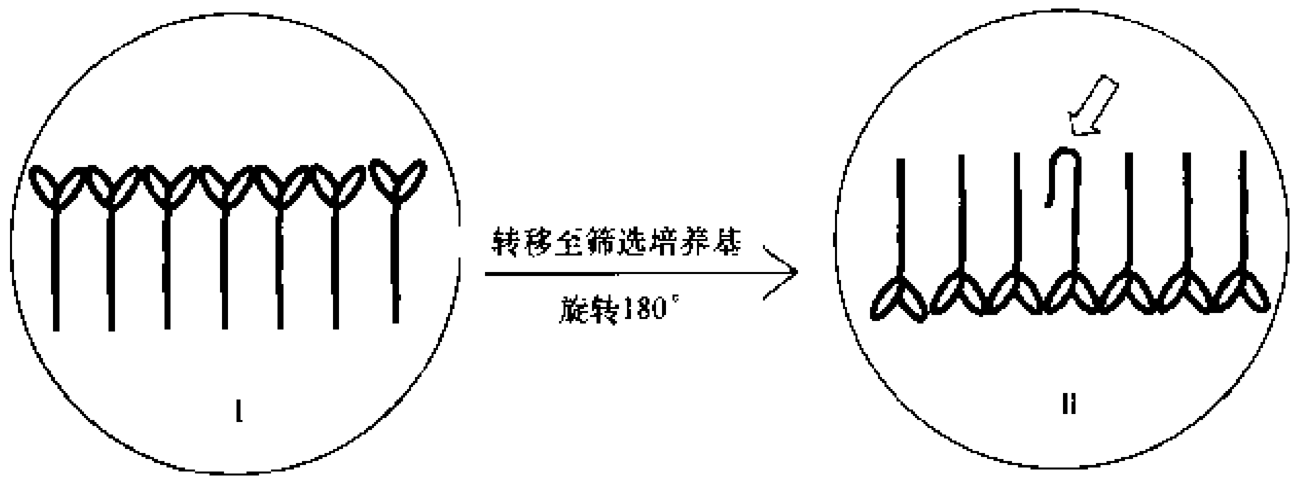



图 21-3　利用"根向地性弯曲生长"为指标筛选拟南芥"钾高效"或"耐低钾"突变体示意图

I：在正常培养基(MS 琼脂固体培养基)上萌发种子并培养 3 至 4 天，培养时将培养皿垂直放置，使幼苗根沿固体培养基的表面垂直向下生长。II：将在正常培养基上培养的幼苗移植至用于突变体筛选的低钾培养基上继续培养，能够发生根的弯曲性生长的幼苗(如箭头所示)则为可能的钾高效或耐低钾突变体。挑选可能的突变体并将其移植至正常培养基上"救活"，然后继续在土壤中培养至收获种子供进一步的研究使用。

### 3. 突变体的遗传分析

根据以上过程筛选得到的突变体也许还并不是希望所得到的突变体，有的被选出的"突变体"可能只是由于个体差异而表现出某种并不能稳定遗传的特殊性状，而有的则可能是多个基因同时发生突变而表现出的数量性状变异。相对于某一目的性状的理想突变体最好是单基因突变体，即突变体所发生的性状变异是与单个基因发生突变所连锁的。因此，应对经上述过程筛选得到的突变体(往往数量较大)进行进一步的遗传分析，包括连续多代种植以观测其"突变性状"是否具有遗传稳定性、通过回交分析其子二代($F_2$)的目的性状分离情况等。事实上，再经过遗传分析后，经前述筛选过程所得到的可能突变体中有大部分会被剔除，只有一小部分是与目的性状相关的"单基因突变体"。这里所说的"单基因突变体"并非指该突变体的核基因组中只有单个基因发生突变，而只是指利用特定的筛选指标、在特定的筛选条件下所表现出的突变性状(目的性状)是与单个发生突变的基因相连锁的。也许该突变体中还存在其他若干个与目的性状无密切关系的基因突变。

## 三、突变体突变基因的定位与克隆

在获得具有目的性状的突变体后，可利用该突变体克隆与目的性状相关的功能基因。

**1. 利用 T-DNA 插入突变体的基因克隆**

由于 T-DNA 插入诱变的过程本身也是对基因进行标记(gene-tagging)的过程，所以一旦得到具有理想目的性状的突变体，对该突变基因的克隆工作将较为简单、快捷。图 21-2 描述利用 T-DNA 插入突变体克隆突变基因的过程。利用筛选获得的具有目的性状的突变体提取总 DNA，以此总 DNA 为模板，以插入的 T-DNA 两端的已知序列为引物进行反向 PCR 扩增，获得含有外源 DNA 片段的插入位点左右两端的突变基因片段。在拟南芥基因组测序工作完成以前，人们在获得插入位点左右两端的突变基因片段后，大多是以此为探针自基因库中筛选相对应的基因克隆。但在拟南芥基因组的全序列已经公布之后，人们在获得插入位点左右两端的突变基因片段后的工作变得更加简单，可将插入位点两端的突变体植株 DNA 片段先进行测序，然后将其序列直接与拟南芥的全序列数据库进行比较，即可方便地获得突变基因的序列信息。

**2. 利用化学诱变突变体进行基因克隆**

利用化学诱变方法获得的突变体克隆目的基因的过程较为繁杂、工作量也十分庞大。基本过程包括：① 作图群体的构建；② 突变基因的染色体定位；③ 利用染色体步移法逐步逼近目的基因；④ 利用基因转移方法克隆目的基因。

(1)作图群体的构建(以构建不同生态型杂交的 $F_2$ 代群体为例)　首先将突变体与不同生态型的野生型拟南芥植株进行杂交，如果突变体的亲本是 Columbia 生态型(简称 C 型)，则可用野生 Landsburg 生态型(简称 L 型)与突变体进行杂交，然后利用 $F_2$ 代筛选仍然表现突变性状的植株构成作图群体。对于基因的粗定位来说，一般有 200～300 株 $F_2$ 代构成的作图群体就可以完成，但对于较精细的定位来说，则需构建数量较大的 $F_2$ 代作图群体(如 1000 株或甚至更多)。

(2)突变基因的染色体定位　在 5 条染色体上选择若干个已知的分子标记位点用于基因的染色体粗定位。至于应该选择那一类分子标记进行基因的染色体定位，较早的时候多用 RFLP 和 RAPD 标记。但近年来更为简单快捷的拟南芥的 SSLP 和 CAPS 标记发展较快，到 2001 年底，已经公布的 SSLP 标记已经超过 1 万，而且新的 SSLP 和 CAPS 标记还在陆续被报道，所以使用后两种标记方法的工作日渐增多。当然，还有近年来迅速发展起来的 SNP 标记(有关各种分子标记的方法及优缺点比较请读者参考有关文献或书籍)。在实际的研究工作中，往往要根据实际情况交叉使用不同的分子标记。在确定分子标记的方法后，可以先在 5 条染色体上根据一定间隔选择若干标记对目的基因进行搜寻定位。如以间隔 20 个厘摩(centimorgan, cM)来选择已知的分子标记，假设目的基因位于两个已知标记之间，则目的基因与已知标记之一的距离应小于或等于 10 个厘摩。利用上述以突变体与不同生态型的野生拟南芥植株进行杂交所获得的 $F_2$ 代作图群体对目的基因(突变基因)进行染色体定位的基本原理是：不同生态型拟南芥(如 C 型和 L 型)之间的基因序列有所不同，通过杂交所获得的作图群体由于染色体的重组与交换获得了一定的多态性(即含有另一生态型基因组的部分序列)。目前可利用的多数分子标记(如 SSLP 或 CAPS 标记)的 PCR 扩增产物或扩增后的酶切产物的长度在 C 型和 L 型拟南芥之间有明显差异(即所谓多态性)。理论上讲，如果目的基因距离被检测的某一分子标记的遗传距离愈远，则在此区间内发生重组交换的频率就愈高；而利用该已知标记为引物、以作图群体植株的 DNA 为模板所获得的扩增产物中同时出现两种生态型 DNA 片段的概率也就愈大。根据此原理，以所选择的已知分子标记为引物对 $F_2$ 代作图群体植株 DNA 分别进行 PCR 扩增及产物电泳检测，根据产物多态性出现的几率可以计算出目的基因与已知标记的遗传距离，从而将目的基因大致定位在染色体的某一区段内。所用的作图群体的数量愈大，则目的基因的定位愈准确精

细。

(3)利用染色体步移法逐步逼近目的基因　在已经将目的基因定位在染色体的某一区段之后，由于该区段内可能仍包含许多基因，所以需要进一步缩小突变基因存在的范围，直至使克隆目的基因成为可能。逐步逼近目的基因、将目的基因存在的范围尽可能地缩小的过程被称为"染色体步移"(chromosome walking)。在基因粗定位的基础上，如果在已经使用的两个分子标记之间与目的基因更为接近的区域还有已知的分子标记，则可以直接利用这些标记进行染色体步移，直至没有已知的分子标记可以利用。接下来则需自行寻找新的分子标记。在拟南芥基因组全序列已经公布之后，寻找新的分子标记的工作已经变得相对简单了。可以根据目的基因附近的 DNA 序列，根据分子标记引物设计的原则自行设计一些引物继续进行染色体步移，直到将目的基因定位在很小的一段 DNA 序列范围内。

(4)利用基因转移方法克隆目的基因　在将目的基因定位在很小的一段 DNA 序列范围内之后，如何克隆目的基因则需视具体情况而定。最幸运的情况是，在含有目的基因的 DNA 序列范围内只有一个基因编码区域，则此编码区即为该目的基因序列。但更常见的情况是在含有目的基因的 DNA 序列范围内包含多个编码区域，这就需要对该段 DNA 进行亚克隆，然后分别将亚克隆转移到突变体株中进行性状恢复实验，能使突变体性状恢复的亚克隆 DNA 片段含有目的基因的编码区。另外，也可通过对含有目的基因的 DNA 片段内的所有编码区域的测序来寻找突变位点。当然，在具体研究工作中，常将上述方法结合起来应用。

## 第三节　拟南芥的基因转化

在利用拟南芥为材料开展研究工作的过程中，经常需要根据研究目的对拟南芥实行基因转化。对拟南芥进行基因转化的原理与对其他植物进行转化的原理相同，以下只就以"真空渗入法"转化拟南芥的过程中一些技术方法上的要点予以简述，其他有关内容请读者参考有关植物生物技术或基因工程的文献。

**1. 含目的基因的 Ti 质粒构建**

目的基因在被用于转化寄主植株前先要被插入转化载体，土壤农杆菌(*Agrobacterium tumifaciens*)中的 Ti 质粒是转化双子叶植物时最为常用的载体。将目的基因插入 Ti 质粒的过程见图 20-2 的示意图。将目的基因插入 Ti 质粒后，利用该质粒转化农杆菌获得可用于转化用的农杆菌菌株。

**2. 植物材料准备**

将拟南芥种子用 0.5% 次氯酸钠和 0.01% Triton-X 100 混合液消毒 10 分钟，用无菌水清洗 3～4 次后将消毒后的种子在 4℃下春化 2～3 天，直接播种于营养土与蛭石的混合物(营养土与蛭石的体积比为 1∶1 或 2∶1)，培养室温度控制在 22℃(昼) / 18℃(夜)，光周期为 12 小时(光)/12 小时(暗)，光强为 80～120 $\mu mol/(m^2 \cdot s)$。培养幼苗至 2 对真叶后间苗，在直径为 10 cm 的花盆中每盆保留 4～5 株。待植株抽薹至 3～5cm 左右高时剪去茎的尖端使次生花序生长，剪切位点应在最顶端茎生叶的上方(使腋生花序的茎位于茎生叶的基部)。继续培养大约 4～5 天后的植株可用于转化，此时的植株已有侧枝发生，并已有一些花蕾。

**3. 农杆菌准备**

将前述用含目的基因的 Ti 质粒转化的农杆菌接种于 YEB 培养基 (含抗生素)中预培养(28℃，200 r/min 振荡过夜)，转化前一天接种于含相同抗生素的 YEB 培养基中扩大培养至 $OD_{600}$ 为 1.2 ～1.6，在 5000*g* 下离心 15 分钟收集农杆菌，重新悬浮于转化拟南芥的渗入缓冲液(infiltration medium)，调节农杆菌密度使 $OD_{600}$ 为 0.8。转化拟南芥时，每 200 ml 悬浮菌液可重复使用 3 次。

**4. 拟南芥的转化**

准备一盛有 200 ml 悬浮菌液的容器，将前述种有拟南芥的花盆翻转、使植株茎部浸入悬浮菌液，再将整个体系置于一密封容器中，抽真空至 50 kPa，持续处理 10 分钟左右。然后缓慢放气后取出花盆，侧躺于托盘中、并用塑料薄膜覆盖。待第二天取下塑料薄膜，直立放置花盆继续培养至收获种子（$T_1$ 代）。

**5. 转化植株筛选**

制备 MS 选择平板，将 $T_1$ 代种子用 0.5% 次氯酸钠和 0.01% Triton-X 100 混合液消毒 10 分钟，再用无菌水清洗 3～4 次后将种子平铺在 MS 选择培养板上（密度为 1000～2000 粒种子/皿），4℃下春化 2～3 天后移入生长箱中（22℃恒温，24 小时光照，光强 30～40μ mol/($m^2$ · s)，7 天后挑选转化植株。转化植株的生长正常，真叶健康呈深绿色，根伸长至培养基中；而非转化植株基本不能生长，萌发的幼苗呈黄白色。将转化植株转移至正常 MS 培养基，培养 10 天后转入土壤继续培养至收获 $T_2$ 代种子。分株保存转化植株种子，备下一步观察检测用。

## 第四节　拟南芥种植培养的一般方法

拟南芥是野生的双子叶草本植物，在野外自然条件下一般春季萌发，到夏季即种子成熟。应该说拟南芥的生长发育对环境条件并无十分特殊的要求，因此在实验室条件下的种植及管理也相对比较简单。但国内许多实验室反映，拟南芥的培养较为困难，幼苗时发生死亡、或抽薹后植株生长瘦弱等现象经常发生；而且经常发生较严重的虫害等。本节根据我们数年来培养拟南芥的一些体会，简述实验室条件下培养拟南芥的一般方法及应该注意的问题。

**1. 生长室（或培养室）条件**

如果有条件较好的日光温室（包括夏季有降温装置、冬季的晚上可以增温等），可以直接在温室内培养拟南芥。但如果没有现成可用的温室，而新建温室又投资太大，可选择一般实验楼的普通房间稍加改装即可作为拟南芥的培养室。

（1）*温度条件*　适宜拟南芥生长的温度在 18～22℃之间，一般高温以不超过 25℃为宜。有条件的情况下，可以利用可控温的制冷/加热机组作为培养室的温度控制装置。最简单的方法是利用冷暖两用式空调机，空调机的功率大小可根据培养室的面积和光源功率的大小而定。根据经验，一间 12$m^2$ 左右大小的培养室，按照不大于 5 kW 的日光灯光源配置（作为主要散热源的日光灯镇流器部分可安装在培养室外），有 2 台 1.5 匹的空调机就能满足北京地区四季条件下培养室内的温度调节。如果选用功率较大的特殊光源，可在生长室内装一玻璃隔层，将隔层与用于培养拟南芥的空间之间尽可能密封，用通风的方式将隔层内的光源散热消除。

（2）*光照条件*　拟南芥的生长不需要很强的光照，将生长室内的光照强度控制在 80 ～ 120μmol/($m^2$ · s)之间即可。除非所从事的研究工作有特殊要求，拟南芥的一般培养过程对光质的要求也不严格，仅用一定密度的日光灯管就可以达到要求。如图 21-1 B、C、D 所示，在培养室内可摆放多层培养架，每层安装 5～6 支 40 w 的日光灯即能达到所需光照强度。

（3）*湿度*　在拟南芥幼苗期，培养室内最好保持相对湿度在 75%～80%之间。待拟南芥长出 2 对以上真叶后，只要维持一般的湿度即可，不必特别增加湿度。增加培养室内湿度可用一般的市售家用加湿器即可。如果室内培养的拟南芥生长期各不相同，可采用对幼苗局部塑料薄膜保湿的方法，而不必将整个培养室维持在较高湿度。

**2. 播种前种子的处理**

在播种前最好将种子进行消毒、春化处理。可用 0.5% 次氯酸钠和 0.01% Triton-X 100 混合液

将种子消毒10分钟，再用无菌水清洗3～4次，以免植株发生病害。对于有时需要在无菌条件下培养的幼苗，可采用同样的方法对种子进行消毒。种子的春化处理并不是必需的，但春化处理可以有效地提高种子的发芽率。对种子的春化处理可以直接在一般的冰箱里(4℃左右)进行，将消毒后的种子在湿润条件下春化2～3天后可进行播种。

**3. 种植及一般管理**

播种时可将春化后的种子直接播于预先浸湿的营养土(可在花市购得)与蛭石的混合物中，种子应播于混合土的近表面(切忌深播)。为保证出苗整齐，每一位点可播数粒种子。为保持湿度，在播种后可用塑料薄膜将盆(或育苗盘)覆盖，待幼苗长出2对真叶后再将薄膜去掉。图21-1 B、C示在育苗盘中培养的拟南芥，图21-1 D示在花盆中培养的拟南芥。培养室温度以20～22℃之间为宜(勿超过25℃)，黑暗/光照周期为12/12小时或10/14小时，光照强度为80～120 μmol/($m^2$ · s)。待幼苗长出至少2对真叶后，可适当进行间苗使植株间有一定间隔距离，以保证植株个体生长健壮、结实饱满。培养拟南芥经常会遇到蚜虫的危害，可根据虫情用稀释2000～3000倍的爱福丁或虫螨齐克交替使用以灭虫。为防止病虫害，还应注意对所用营养土的灭菌、灭虫卵处理，特别是对在使用过程中曾发生病虫害的营养土应该进行处理或废弃不再使用。

## 第五节　有关拟南芥的一些常用信息

对于利用拟南芥为实验材料的研究人员，可以充分利用各种来源的有关拟南芥研究的信息。特别是国际拟南芥组织以及众多研究机构通过互联网发布、交流并不断更新的大量信息或数据库，更是以拟南芥为实验材料的研究人员不可不知、不能不用的信息资源。而对于研究工作涉及分子生物学内容者，可能更是会经常性地使用有关拟南芥基因组的各种数据库。以下仅就一些最常用的拟南芥数据库和互联网站等相关信息进行简单介绍，读者可根据自己的研究需要进一步去搜寻相关信息，当然最好是能根据自己的研究需要在实验室建立自己的拟南芥信息工作平台。

**1. 常用的拟南芥互联网数据库**

下面简单介绍经常用到的拟南芥数据库，每个数据库都有其特点及所侧重的内容。实际上，只要进入其中某个数据库后，就可非常方便地链接到相关的数据库。

**AIMS**(*Arabidopsis* Information Management System，域名：http://aims.cps.msu.edu/aims/)：由美国国家自然科学基金会资助建立的"拟南芥信息管理系统"。通过此信息系统可以非常方便地进入几乎所有其他有关拟南芥的数据库或网站，也可通过此系统直接自设立在美国俄亥俄州立大学的拟南芥生物资源中心(ABRC，*Arabidopsis* Biological Resource Center)和设立在英国诺丁汉大学的拟南芥中心(NASC，Nottingham *Arabidopsis* Stock Centre)通过互联网索取或订购拟南芥突变体种子或DNA等。

**ABRC**(*Arabidopsis* Biological Resource Center，域名：http://www.biosci.ohio-state.edu/plantbio/Facilities/abrc/ABRCHOME.HTM)：设立在美国俄亥俄州立大学的拟南芥生物资源中心网站。利用该网站可免费索取一定数量的各种野生型、突变体或转化体种子，也可索取或购买所需的DNA。从用户注册到提交索取种子或DNA的订单，都可以通过网上很方便地完成。当然，也可由此方便地进入其他有关拟南芥的数据库或网站。

**NASC**(Nottingham *Arabidopsis* Stock Center，域名：http://nasc.life.nott.ac.uk/)：设立在英国诺丁汉大学的拟南芥种子和DNA保存及分发中心，其功能类似于ABRC。

**ATGC**(*Arabidopsis thaliana* Genome Center，域名：http://thale.salk.edu/)：拟南芥基因组中心网站，设立在美国宾西法尼亚大学。该网站提供拟南芥基因组的物理图谱、遗传图谱、研究方法等

信息。

**TAIR**(The *Arabidopsis* Information Resource，域名：http://www.arabidopsis.org)：本网站包含大量关于拟南芥研究的数据库，诸如基因、分子标记等的寻找；遗传图谱和物理图谱的观察分析；基于物理图谱和基因数据库的 BLAST 分析；各种关于拟南芥研究的技术方法介绍；拟南芥国际会议的信息；等等。

**NCBI** (The National Center for Biotechnology Information，域名：http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genebank)：美国国家生物技术信息中心网站。该网站包括多种生物的基因组数据库(GeneBank)以及各种模式生物的 EST(Expressed Sequence Tag)序列数据库等。

**DatA**(Database of *Arabidopsis thaliana* Annotation，域名：http://baggage.stanford.edu/group/arabprotein/)：利用此数据库可搜寻所有拟南芥基因组序列中的编码区域。

**Lehle Seeds** (http://www.arabidopsis.com/)：Lehle Seeds 是一供应各种拟南芥种子(包括野生型种子、诱变种子、部分突变体种子)、DNA、以及各种拟南芥研究用的仪器设备和消耗品等的商业性公司。

**TIGR**(The Institute for Genomic Research，该机构有关拟南芥数据库的域名为：http://www.tigr.org/tdb/ath1/htmls/index.html)：TIGR 是一家非赢利性的基因组研究及资源信息管理机构，所属网站包括从细菌到人类的各种模式生物基因组的结构、功能及其比较的数据库。诸如"*Arabidopsis thaliana* Annotation Database"包括拟南芥所有的编码区序列；"Landsberg erecta random sequence database"包括 Landsberg 生态型拟南芥的数千个随机序列，对于从事基因图谱克隆的研究人员非常重要(由于已经公布的拟南芥基因组全序列物理图谱是利用 Columbia 生态型拟南芥完成的，对于以基因组 DNA 多态性为基础的图谱克隆过程中寻找新的多态性分子标记非常有用)；"*Arabidopsis thaliana* Gene Index (AtGI)"数据库则包含所有已知的拟南芥 EST 序列和基因序列；等等。

**2. 几种电子(网络)版的实验方法手册**

① 欧洲分子生物学会的"拟南芥遗传及分子生物学实用教程"(EMBO Practical Course on Genetic and Molecular Analysis of *Arabidopsis*，http://www.cnrs-gif.fr/isv/EMBO/manuals/)：可以 pdf 格式下载该教程全文。内容包括：配子体发生；利用分子标记进行基因的图谱克隆；拟南芥的诱变及突变体分析；拟南芥的真空渗入转化方法；拟南芥的反向遗传学研究方法；拟南芥的物理图谱基因克隆；利用微列阵方法检测 mRNA 的表达；拟南芥的细胞生物学研究方法；等。

② 美国冷泉港实验室拟南芥分子遗传实验教程(Cold Spring Harbor *Arabidopsis* Molecular Genetics Course Manual，可自 http://www.arabidopsis.org/cshl-course/下载)：内容包括：拟南芥的遗传、突变体筛选；基因的图位克隆；拟南芥花发育的遗传分析；利用非放射性探针进行原位杂交；基因表达与蛋白定位；植物防御反应；基因的转座子标记与增强子捕捉；拟南芥的次生代谢物分析；利用酵母功能补偿方法分离拟南芥的 cDNA；T-DNA 标记方法；等。

③ 互联网上还有一些直接公布的实验方法(*Arabidopsis* Protocols on the Web：http://www.arabidopsis.org/methods.html)，如拟南芥的非真空渗入转化方法，用于增强子和基因捕捉的拟南芥转座子诱变等。

**3. 一些有关拟南芥的专著**

① *Arabidopsis thaliana* as a Model for Plant-Pathogen Interactions. Edited by K Davis and R Hammerschmidt. (1993)

② *Arabidopsis*: Annual Plant Reviews, Vol. 1. Mary Anderson and Jeremy Roberts, eds. (1998)

③ *Arabidopsis*. Elliot M. Meyerowitz, Chris R. Somerville, eds. (1994)

④ Methods in Arabidopsis research. Csaba Koncz, Nam-Hai Chua, Jeff Schell eds. (1992)
⑤ *Arabidopsis*: A Practical Approach. Zoe Wilson ed. (2000)
⑥ *Arabidopsis*: an atlas of morphology and development. John L. Bowman ed. (1993)

# 主要参考文献


C. 达尔文著. 1995. 娄昌后，周邦立，祝宗岭译. 植物的运动. 北京：科学出版社

曹宗巽，吴相钰. 1980. 植物生理学. 北京：人民教育出版社

董汉松主编. 1995. 植物诱导抗病性原理和研究. 北京：科学出版社

刘祖祺，张石城. 1994. 植物抗性生理学. 北京：中国农业大学出版社

陆定志，傅家瑞，宋松泉. 1997. 衰老过程的调控. 北京：中国农业出版社

孟繁静，刘道宏，苏业瑜. 1995. 植物生理生化. 北京：中国农业出版社

秦明波等. 植物学集刊. 1994(1)：29

汪堃仁，薛绍白，柳惠图. 1998. 细胞生物学. 第二版. 北京：北京师范大学出版社

王小菁. 1995. 光合作用的碳代谢. 见：陈汝民主编. 现代植物科学引论. 广州：广东高等教育出版社. 221～283

王小菁. 1995. 植物光形态建成. 见：陈汝民主编. 现代植物科学引论. 广州：广东高等教育出版社. 361～435

王忠. 2000. 植物生理学. 北京：中国农业出版社

许智宏，刘春明主编. 1998. 植物发育的分子机理. 北京：科学出版社

余叔文，汤章城. 1998. 植物生理与分子生物学. 第二版. 北京：科学出版社

翟中和. 1996. 细胞生物学. 北京：高等教育出版社

周肇基. 1998. 植物生理学史. 广州：广东高等教育出版社

Aducci P. 1997. Signal transduction in plants. Switzerland: Birkhauser Verlag

Agosta W. 1996. Bombardier beetles and fever trees: a close up look at chemical warfare and signals in animals and plants. MA: Addison Wesley, Reading

Ahmad M, Jarillo JA, Smirnova O, et al. 1998. Cryptochrome blue light photoreceptors of *Arabidopsis* implicated in phototropism. Nature, 392: 720～723

Alberts B, Bray D, Lewis J, et al. 1994. Molecular biology of the cell. 3rd ed. New York: Garland,

Assmann S M, Simoncini L, Schroeder J I. 1985. Blue light activates electrogenic ion pumping in guard cell protoplasts of Vicia faba. Nature, 318: 285～287

Assmann S M. 1993. Signal transduction in guard cells. Annu Rev Cell Biol, 9: 345～375

Assmann S M. 1995. Cyclic AMP as a second messenger in higher plants: status and future prospects. Plant Physiology, 108: 885～889

Bacic A, Harris P J, Stone B A. 1988. Structure and function of plant cell walls. In: Preiss J ed. The biochemistry of plants. Vol. 14. New York: Academic Press. 297～371

Becker W M, Reece J B, Poenie M F. 1996. The world of the cell. 3rd ed. Menlo Park, CA: Benjamin/Cummings

Boller T. 1995. Chemoperception of microbial signals in plant cells. Annul Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 46: 189～214

Boyer P D. 1997. The ATP synthase: a splendid molecular machine. Annu Rev Biochem, 66: 717～749

Braam J, Davis RW. 1990. Rain-, wind-, and touched- induced expression of calmodulin and calmodulin-related genes in Arabidopsis. Cell, 60: 357～364

Buchanan B B, Gruissem W, Jones R L. 2000. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Rockville, Maryland, USA: Courier Companies, Inc.

Bush D S. 1995. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 46: 95～122

Capkova V, Zbrozek J, Tupy J. 1994. Protein synthesis in tobacco pollen tubles: preferential synthesis of cell-wall 69-kDa and 66-kDa glycoproteins. Sex Plant Reprod, 7: 57～66

Carre I, Kay SA. 1996. Mechanism of input and output in circadian transduction pathways. In: Verma DPS ed. Signal transduction in plant growth and development. New York: Springer-Verlag/Wien. 231～247

Casal J J, Sanchez R A, Botto J F. 1998. Modes of action of phytochromes. Journal of Experimental Botany, 49: 127～138

Chen R, Rosen E, Masson P H. 1999. Gravitropism in higher plants. Plant Physiology. 120: 343～350

Coen E S. 1991. The role of homeotic genes in flower development and evolution. Amnl Rer, 42: 421～279

Cramer W A, Sonano G M, Ponomarev M et al. 1996. Some new structural aspects and old controversies concerning the cytochrome $b_6f$ complex of oxygenic photosynthesis. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 47: 477~508

Darnell J, Lodish H, Baltimore D. 1995. Molecular Biology. 3rd ed. In: Scientific American Books. New York: W. H. Freeman

Delmer D P, Amor Y. 1995. Cellulose biosynthesis. Plant Cell, 7: 987~1000

Demmig-Adams B, Adams W W. 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 43: 599~626

Douce R. 1985. Mitochondria in higher plants: stucture, function, and biogenesis. Orlando, Fla: Academic Press

Fry S C. 1995. Polysaccharide-modifying enzymes in the plant cell wall. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 46: 497~520

Fuller K W, Gallon J R. 1985. Plant products and the new technology. Oxford: Clarendon Press

Furuya M. 1993. Phytochromes: their molecular species, gene families, and functions. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 44: 617~645

Ghanotakis D, Yocum C F. 1990. Photosystem I and the oxygen-evolving complex. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 41: 255~276

Gilroy S, Trewavas T. 1994. A decade of plant signals. BioEssay, 16: 677~682

Golbeck J H. 1992. Structure and function of potosystem I. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 43: 293~324

Green B R, Dumford D G. 1996. The chlorophyll-carotenoid proteins of oxygenic photosynthesis. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 47: 685~714

Green C E, Somers D A, Hackett W P. 1987. Plant tissue and cell culture. New York: Liss

Gressyhoff P M. 1992. Plant Biotechnology and Development. Boca Ratonl: CRC Press.

Hahlbrock K, Scheel D. 1989. Physiology and molecular biology of phenylpropanoid metabolism. Annul Rev. Plant Physiol. Plant Mol Biol, 40: 347~369

Hain R, Reif HJ, Krause E et al. 1993. Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant. Nature, 361: 153~156

Hall J L, Baker D A, Oparka K L. 1996. Transport of Photoassimilates. J Exp Bot, 47 (Special Issue): 1119~1333

Hankamer B, Barber J, Boekema E J. 1997. Structure and membrane organization of photosystem II in green plants. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 48: 641~671

Harborne J B. 1993. Introduction to Ecological Biochemistry. 4th ed. New York: Academic Press

Hartmann T. 1991. Alkaloids. In: Rosenthal G A, Berenbaum M R ed. Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites. vol. I: the chemical participants. 2nd ed. San Diego: Academic Press. 79~121.

Holbrook N M, Burns M J, Field C B. 1995. Negative xylem pressures in plants. A test of the balancing pressure technique. Science, 270: 1193~1194

Hopkins W. 1995. Introduction to Plant Physiology. New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore: John Wiley & Sons, Inc.

Horton P, Ruban A V, Walters RG. 1996. Regulation of light harvesting in green plants. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 47: 655~684

Horwitz B A, Berrocal T G M. 1997. A spectroscopic view of some recent advances in the study of blue light photoreception. Bot. Acta, 110: 360~368

Huang S, et al. 1994. Ribonuclease activity of *Petunia inflata* S proteins is essential for rejection of self-pollen. Plant Cell, 6: 1021~1028

Kendrick RE, Kronenberg. 1994. Photomorphogenesis in plants. 2nd ed. Kluwer, Dordrecht, Netherlands

Kombrink E, Somssich I E. 1995. Defense responses of plants to pathogens. Adv Bot Res, 21: 1~34

Krause G H, Weis E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 42: 633~662

Kremer P J, Bojer J S. 1995. Water relations of plants and soil. San Diego, CA: Academic Press

Kung S M, Arntzen C J. 1989. Plant Biotechnology. Boston: Butterworth

Lang G A. 1996. Plant dormancy: physiology, biochemistry and molecular biology. UK: CAB International

Leopold AC. 1998. Sencence and aging in plants. San Diego, CA: Academic Press

Levitt J. 1972. Responses of Plants to Environmental Stress. New York: Academic Press

Lichtenthaler H K, Schwender J, Disch A et al. 1997. Biosynthesis of isoprenoids in higher plant chloroplasts proceeds via a meval-

onate-independent pathway. FEBS Lett, 400: 271～274

Long S P, Humphries S, Falkowski P G. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 45: 477～508

Lucas W J. 1995. Plasmodcsmata: intercellular channels for macromolecular transport in plants. Currt Opin Cell Boil, 7: 673～680

Madore M M, Lucas W J. 1995. Carbon Partitioning and Source Sink Interactions in Plants. Rockville, MD: American Society of Plant Physiologists

Mascarenhas J. 1993. Molecular mechanisms of pollen tube growth and differentiation. Plant Cell, 5: 1303～1314

Matters GL, Beale SI. 1995. Blue-light-regulated expression of genes for two early steps of chlorophyll biosynthesis in *Chlamydomonas reinhardtii*. Plant Physiol, 109: 471～479

Mclean B G, Hempel F D, Zambryski P. C. 1997. Plant intercellular communication via plasmodesmata. Plant Cell, 9: 1077～1087

Moore R, Clark W D, Stern K R. 1995. Botany. Wm. C. Brown?

Nobel P S. 1991. Physicochemical and Environmental Plant Physiology. San Diego: Academic Press

Patrick J W. 1997. Phloem unloading: Sieve element unloading and post-Isieve element transport. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol Biol, 48: 191～222

Pessarakli M. 1999. Handbook of plant and crop stress. Marcel Dekker, Inc.

Plaxton W C. 1996. The organization and regulation of plant glycolysis. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 47: 185～124S

Pockman W T, Sperry J S, OLeary J W. 1995. Sustained and significant negative pressure in xylem. Nature, 378: 715～716

Quail P H. 1994. Photosensory perception and signal transduction in plants. Current Opinion in Genetics and Development, 4: 652～661

Rice E L. 1987. Allelopathy: An overview. In Waller G R ed. Allelochemicals: Role in Agriculture and Forestry (ACS Symposium Series, no. 330), American Chemical Society, Washington, DC., 8～22

Richard E. Wiliamson. 1993. Organelle movements. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 44: 181～202

Rosenthal G A. 1991. The biochemical basis for the deleterious effects of L-canavanine. Phytochemistry, 30: 1055～1058

Salisbury F B, Ross C W. 1992. Plant Physiology. 4th ed. Belmont, CA: Wadsworth

Salomon M, Zacherl M, Rudiger W. 1996. Changes in blue-light-dependent protein phosphorylation during the early development of etiolated oat seedlings. Planta, 199: 336～342

Schuster W, Brennicke A. 1994. The plant mitochondrial genome: Physical structure, information content, RNA editing, and gene migrating to the nucleus. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 45: 61～78

Short T W. 1994. The transduction of blue light signal in higher plants. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 45: 143～171

Siedow J N, Umbach A L. 1995. Plant mitochondrial electron transfer and molecular biology. Plant Cell, 7: 821～831

Smart C M. 1994. Gene express during leaf senscence. New Phytol, 126: 419～448

Smith H. 1995. Physiological and ecological function within the phytochrome family. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 46: 289～315

Smith J A C, Griffiths H. 1993. Water deficits: plant responses from cell to community. Oxford: BIOS Scientific

Somers D E, Devlin P F, Kay S A. 1998. Phytochromes and cryptochromes in the entrainment of the *Arabidopsis* circadian clok. Science, 282: 1488～1490

Somers D E. 1999. The physiology and molecular bases of the plant circadian clock. Plant Physiology, 121: 9～19

Sten W D. 1986. Transport and diffusion across cell membranes. Orlando, FL: Academic Press

Steudle E, Frensch J. 1996. Water transport in plants: Role of the apoplast. Plant Soil, 187: 67～79

Steudle E. 1989. Water flow in plants and its coupling to other processes. Methods Enzymol, 174: 183～225

Steudle E. 1993. Pressure probe techniques. Basic principles and application to studies of water and solute relations at the cell, tissue and organ level. In: Smith J A C, Griffiths H ed. Water deficits: plant responses from cell to community. Oxford: BIOS Scientific. 5～36

Sweeney BM. 1987. Rhythmic Phenomena in Plants. San Diego: Academic Press

Taiz L, Zeiger E. 1998. Plant Physiology. 2nd ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc.

Tallman G. 1992. The chemiosmotic model of stomatal opening revised. Crit Rev Plant Sci, 11: 35～57

Tyree M T, Sperry J S. 1989. Vulnerability of xylem in cavitation and embolism. Annu Rev Plant Physiol, 40: 19～38

Van Bel A J E. 1993. Strategies of phloem loading. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 44: 253～281

Verma D P S. 1996. Signal transduction in plant growth and development. New York: Springer-Verlag/Wien

von Wettstein D, Gough S, Kannagara G. 1995. Chlorophyll biosynthesis. Plant Cell, 7: 1039～1057
Whitehouse DG, Moore A L. 1995. Regulation of oxidative phosphorylation in plant mitochondria. In: Levings III C S, Vasil I ed. The molecular biology of plant mitochondria. Kluwer, Dordrecht, Netherlands. 313～344
Wiskich J T, Dry I B. 1985. The tricarboxylic acid cycle in plant mitochondria: its operation and regulation. In: Douce R, Day D A. Higher plant cell respiration (encyclopedia of plant physiology. new series. vol. 18). Berlin: Springer-Verlag. 281～313
Zamski E, Schaffer A. 1996. Photoassimilate distribution in plants and crops: sourse-sink relationships. New York: M. Dekker
Zeiger E. 1983. The biology of stomatal guard cells. Annu Rev Plant Physiol, 34: 441～475
Zimmermann M H. 1983. Xylem Structure and the Ascent of Sap. Berlin: Springer-Verlag

# 中英文名词对照索引

## A



## B



## C



## D



## E



## F

L



M



N



O



P



Q



R



S

**Z**